Über die Ausscheidung von Saponinen im Harn und ihre blutzersetzende Wirkung innerhalb des Organismus.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Josef Fieger.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Rostock.
Rats- und Universitäts-Buchdruckerei von Adlers Erben, G. m. b. H.
1914.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
zu Rostock.

Referent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Kobert.

Dem Andenken an meine lieben
Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553625_0075

Inhaltsverzeichnis.

I. Einleitung 7
II. Geschichtliches und bisher experimentell Festgestelltes über Sapindussaponine 14
III. Einige Vorversuche mit käuflichem Sapindussaponin 30
IV. Blutversuche mit Sapindussaponin 35
V. Blutversuche mit Sapindussapogenin 39
VI. Tierversuche mit Sapindussaponin 43
1. an Fröschen 43
2. an Kaninchen 44
3. am Hund 52
VII. Eigene Versuche mit käuflichem Guajaksaponin . . . 63
1. Versuche an Blut 63
a) mit Guajaksaponin 63
b) mit Guajaksapogenin 65
2. Versuche am Hund 69
VIII. Eigene Versuche mit käuflichem Quillajasaponin . . 78
Gesamtergebnisse 79
Lebenslauf 83

I. Einleitung.

Die Gruppe der Saponine ermangelt nach verschiedenen Richtungen hin noch endgiltiger Untersuchungen. Die Formeln der Saponine sind, da diese Stoffe meist nicht kristallisieren, sehr schwer scharf festzustellen. Über die Konstitution der Aglykone der Saponine fangen wir eben erst an, uns Vorstellungen zu machen. Das physiologisch-chemische Verhalten der Saponine im Organismus ist für die meisten noch unerforscht. Ob die Fermente des Darmkanals auf Saponine einwirken, ist erst in letzter Zeit experimentell genauer geprüft worden.

Es ist daher begreiflich, wenn den ersten Autoren, die sich mit dem Verhalten von Saponinsubstanzen im Tierorganismus befaßten, manches unbekannt blieb, was wir heute als wichtige Tatsachen kennen und beinahe selbstverständlich finden. Zudem ist es ohne weiteres klar, daß die älteren Autoren zuerst nur darauf achteten, ob die Tiere am Gift starben oder nicht. Heutzutage verschaffen wir uns über das Verhalten einer Substanz im Tierorganismus bei nicht letalen Dosen auf zweierlei Art Aufschluß. Wir studieren einmal die etwaigen pathologischen Erscheinungen, die sich an dem Tier zeigen; zweitens aber beachten wir vor allem auch die Ausscheidungen durch Kot und Harn. Diesen zweiten Punkt haben die älteren Autoren meist außer acht

gelassen. So z. B. Nik. Kruskal[1]), der das in den nachstehenden Versuchen hauptsächlich angewandte Sapindus-Saponin zuerst prüfte. Er führte unter seinen zahlreichen Versuchen bei Kaninchen auch einen Versuch mit innerer Darreichung dieses Saponins aus, wobei er dem Tiere eine nicht unbeträchtliche Dose verabfolgte. Da sich keine direkten Krankheitserscheinungen zeigten, so schloß er mit Recht, daß die Giftigkeit vom Magendarmkanal aus gering ist. Eine genauere und längere Beobachtung des Versuchstieres fand aber nicht statt; Urin und Kot wurden nicht untersucht. Und doch geben gerade diese Beobachtungen erst Aufschluß über solche Schädigungen der inneren lebenswichtigen Organe, die äußerlich nicht als grobe Krankheitssymptome wahrzunehmen sind.

Allerdings war auch früher schon bei einigen sehr giftigen Saponinen auf den Urin hingewiesen worden. So wußte man z. B. durch Tufanow[2]), daß Cyclamin nach intravenöser Einspritzung Hämoglobinurie machen kann. Es war dies eben eine so auffällige Veränderung des Harns, daß sie dem Untersucher nicht hatte entgehen können. Da dieses Saponin so schwere Veränderungen des Urins hervorrief, so mußte es immerhin auffallend erscheinen, daß andere doch auch giftige Saponine bei intravenöser Einführung anscheinend keinerlei Veränderungen dieses Sekretes hervorrufen sollten. Bei innerlicher Darreichung konnte dieser Gedanke natürlich gar nicht aufkommen, so lange man der Meinung war, daß die meisten Saponine so gut wie gar nicht resorbiert, sondern bei nicht letalen Dosen rasch vom Magendarmkanal unresorbiert ausgeschieden würden.

---

[1]) Nikol. Kruskal, Arb. d. pharmakol. Inst. zu Dorpat, herausgegeben von R. Kobert, Bd. 6, 1891, S. 129—135.

[2]) Nik. Tufanow, Über Cyclamin. Ebenda Bd. 1, 1888, S. 100.

Frieboes[1]) hat als erster hierin Wandel geschaffen. Nachdem er selbst 1 g neutrales Guajakrindensaponin innerlich genommen hatte, untersuchte er seinen Harn genau daraufhin. Er vermutete, daß das Saponin resorbiert und im Harn wieder ausgeschieden werden dürfte. In der Tat konnte er aus den nächsten Harnmengen nach der sog. Bleimethode Saponin wieder abscheiden und rein aus dem Harn darstellen. Es gelang ihm auch, diese wiedergewonnene Substanz als Saponin zu identifizieren, da er durch Hydrolyse dieser Substanz die Spaltungsprodukte seines Saponins erhielt. Damit war mit einem Schlage auf zwei Fragen eine Antwort gegeben. Einmal war bewiesen, daß gewisse Saponine auch in Dosen, die noch keinerlei pathologische Erscheinungen entzündlicher Art im Magendarmkanal machen, resorbiert werden. Zweitens aber war es nach diesem Versuch unzweifelhaft, daß das in Rede stehende Saponin zum Teil in unzersetzter Form im Urin ausgeschieden wird. Eine Wiederholung dieses äußerst wichtigen Versuches ist allerdings wünschenswert, namentlich nach der quantitativen Seite hin. Über die quantitativen Vorgänge ist nämlich bei Frieboes nichts ausgesagt. Im übrigen war bezüglich der Frage der Saponinausscheidung im Harn die Praxis der Theorie weit vorausgeeilt. Denn schon seit alters benutzte man mit Erfolg bei Blasenleiden die saponinhaltige Herba Herniariae als Tee. Das Herniaria-Saponin geht eben auch teilweise in den Harn über. In der Folge wurde jedoch die Behauptung, die Frieboes aufstellte, öfters bezweifelt u. a. auch von Wacker[2]). Er bemängelte

---

[1]) W. Frieboes, Beiträge zur Kenntnis der Guajakpräparate. Von d. mediz. Fakultät zu Rostock gekrönte Preisschrift. Stuttgart 1903, S. 71—73.

[2]) Leonhard Wacker, Über d. Wirkung der Saponinsubstanzen. Biochem. Zeitschr., Bd. **12**, 1908, S. 9.

die Beweisführung Frieboes' und behauptete, es werde entweder nur ganz wenig Saponin resorbiert oder in Form eines wenig toxischen Umwandlungsproduktes durch den Harn aus dem Kreislauf entfernt. Von solchen Umwandlungsprodukten könnten nur die Gruppe der Anfangssapogenine oder Prosapogenine in Frage kommen. Ich muß aber gleich von vornherein betonen, daß es für mich ganz gleichbedeutend ist, ob ein Saponin durch den Harn ganz unverändert oder als Anfangssapogenin ausgeschieden wird, da die Anfangssapogenine eine den Saponinen in ihren Wirkungen sehr nahe stehen. Als Versuchstiere benutzte Wacker Hunde. Das im Laufe seiner Versuche allmählich aufgetretene Eiweiß und die im Harnsediment gefundenen Blutkörperchen schlägt er gering an und hebt demgegenüber die Gewichtszunahme der Versuchstiere, deren Wert bei bestehenden Nierenschädigungen doch recht zweideutig ist, sehr hervor. Auch über die bei der Sektion des getöteten Hundes gefundenen Nierenschädigungen geht Wacker leicht hinweg, indem er dergleichen pathologische Veränderungen auch für normale Hundenieren in Anspruch nimmt. Ähnliche Resultate hatte schon vor Wacker auch Lohmann[1]). Er benutzte Kaninchen als Versuchstiere. Beide Autoren verwandten bei ihren Versuchen Quillajasaponin, das sich übrigens für diese Zwecke schlecht genug eignet.

So waren also Frieboes' Ergebnisse von zwei Seiten stark angefochten und die beiden Fragen der Resorption und Ausscheidung bei innerer Darreichung wieder fraglich geworden. Es lag deshalb nahe, die Behauptung von Frieboes mit verschiedenen Saponinen noch einmal nachzuprüfen. War dann die Resorption und Ausscheidung durch den Harn in irgend einer Form nach-

[1]) W. Lohmann, Zeitschr. f. öffentl. Chemie, Bd. 9, 1903, S. 320.

gewiesen, so konnte man gleichzeitig auch die weitere wichtige Frage prüfen, ob und welche Schädigungen die einzelnen Saponine dem Organismus zufügen. Vor allem war es von Bedeutung zu erforschen, ob die hämolytische Kraft auch im Organismus irgendwie zur Geltung kommt, auch wenn man von den wenigen Saponinen, die erwiesenermaßen Hämoglobinurie machen, absieht. In anderer Form, d. h. nicht im Anschluß an innere Darreichung, sondern bei intravenöser Injektion des Saponins ist diese Frage allerdings von Kobert[1]) schon im Jahre 1887 gelöst worden. Er konnte bei intravenöser Injektion von quillajasaurem Natron bei einer Katze nach 6 St. eine Abnahme der roten Blutkörperchen um 25 % konstatieren. An dem Harn war makroskopisch nichts zu sehen. Eine sehr deutliche Sprache bezügl. der Blutzersetzung spricht aus den Versuchen W. v. Schulz[2]). Wegen der Wichtigkeit gerade dieses Passus für diese Abhandlung sollen, soweit als nötig, des Autors eigene Worte hier zitiert werden. Nach intravenöser Injektion von Parillin, Sarsasaponin und Smilaxsaponin sagt er von den bei den eingegangenen Hunden und Katzen erhobenen Befunden folgendes: „Alle drei Substanzen haben eine ähnliche Wirkung, welche darin besteht, daß schon bei Dosen, welche nicht tödlich sind, ja welche sonst keinerlei Erkrankungssymptome hervorrufen, Zersetzung roter Blutkörperchen auftritt. Diese zerfallen und geben ihren Farbstoff an das Serum ab. War nun die Menge der zerstörten Körperchen gering, so wird die Gesamtmenge des in Lösung gegangenen Hämoglobins von der Leber und die Gesamtmenge des Stromas wohl von der Leber und Milz

[1]) R. Kobert, Archiv f. exp. Pathologie u. Pharm., Bd. **23**, 1887, S. 267.

[2]) W. v. Schulz, Arbeiten d. pharmakol. Inst. zu Dorpat Bd. **14**, 1896, S. 66.

abgefangen, und es kommt zu keinen weiteren Störungen. War die Menge der zerstörten Blutkörperchen aber größer, so sind Leber, Milz, Knochenmark etc. nicht imstande, die Gesamtmenge des Hämoglobins und des Stromas abzufangen, und es kommt zu weiteren Störungen im Blute, in der Niere und im Darmkanal. Im Blut bildet sich aus dem gelösten Hämoglobin Methämoglobin und dann in der Leber unter Polycholie Gallenfarbstoff, der seiner Massenhaftigkeit wegen ins Blut zurücktritt. Alle drei Substanzen, d. h. Hämoglobin, Methämoglobin und Gallenfarbstoff, werden z. T. durch die Niere ausgeschieden, deren Parenchym dabei erkrankt, und in deren Kanälchen das gelöste Hämoglobin und Methämoglobin z. T. unlöslich wird und zur Zylinderbildung und Verstopfung der Glomeruluskapseln, der gewundenen und geraden Kanälchen führt."

Ob sich nun diese Vorgänge so abspielen, bleibe dahingestellt. Jedenfalls aber geht das eine mit Sicherheit daraus hervor, daß hämolytisch wirkende Saponine, wenn sie direkt in den Kreislauf gebracht werden — und ein In-den-Kreislauf-Gelangen muß bei sehr großen Mengen dann ja auch vielleicht von den resorbierten gelten — Blutzersetzung hervorrufen. In welcher Form der Zersetzungsprodukte sich diese nun in den Abfang- oder Ausscheischeidungsorganen zeigte, war ja erst von sekundärer Bedeutung. Allerdings galt die Behauptung v. Schulz' streng genommen nur für letale Dosen, da er sie ja auch nur auf Grund seiner Sektionsbefunde aufstellte. Doch vermutete und behauptete er dies mit seinen Worten ja auch für geringere, d. h. also nicht letale Dosen. Der Beweis stand für die weniger toxisch wirkenden Saponine, die keine Hämoglobinurie machten, bis dato noch aus. Entgegen den Behauptungen v. Schulz' trat im letzten Jahre

H. Kunkel[1]) mit der sehr überraschenden Behauptung hervor: „Das Saponin wirkt nämlich nur in vitro, nicht in vivo erythrolytisch, in vivo vielmehr myelotoxisch.“ Diese Worte würden, wenn sie buchstäblich richtig wären, nichts weniger als den völligen Umstoß der von Kobert und v. Schulz gemachten Beobachtungen bedeuten. Den Fragen über die Möglichkeit der Resorption und Ausscheidung im Urin gesellt sich also ohne weiteres die dritte hinzu, ob Blutzersetzung in irgend einer Form nachweisbar ist. Die so also ziemlich genau umschriebene Aufgabe bedingt von vornherein eine bestimmte Versuchsanordnung. Es muß bei innerer Verabreichung von nicht letalen Dosen der Harn der Versuchstiere mindestens auf zwei Punkte hin geprüft werden. Erstens, ob Saponin, und in welcher Form dieses im Urin ausgeschieden wird; zweitens, ob irgendwelche Blutzersetzungsprodukte im Harn vorhanden sind. Der Nachweis etwa unzersetzt ausgeschiedenen Saponins mußte, soweit es eben an und für sich hämolytische Wirkung besitzt, je ein leichter sein. Dem neutralisierten Harn muß eben dann hämolytische Wirkung zukommen. Schwieriger gestaltet sich dieser Nachweis für nicht blutlösendes Saponin. Wie er erbracht wurde, zeigen die betreffenden Versuche. Für den Nachweis der Blutzersetzungsprodukte war der Weg in den üblichen genaueren Untersuchungsmethoden ja gegeben.

---

[1]) Hugo Kunkel, Chemische Beiträge zur Kenntnis der hämoglobinämischen Innenkörper (sog. Heinzkörper). Folia Haematologica, Bd. **14**, 1913, S. 431/32.

II. Geschichtliches und bisher experimentell Festgestelltes über Sapindussaponine.

Ich schließe mich bei meiner Darstellung durchaus an die erschöpfende Darstellung, welche Kruskal[1]) seinerzeit gegeben hat, an. Die Gattung Sapindus, die 1737 von Linné aufgestellt wurde, und von der einige Vertreter schon im grauen Altertum bekannt waren, umfaßt Sträucher und Bäume. Der Hauptrepräsentant der Gattung ist nach Radlkofer Sapindus Saponaria L., der gemeine Seifenbaum des tropischen Amerika. Von Interesse für uns hier ist nur das Fleisch seiner Früchte. Er trägt galläpfelgroße, glänzende, schwarzrote Früchte, die süßlichbitter und zusammenziehend schmecken. In den Parenchymzellen des Sarcocapiums dieser Früchte ist in großer Menge eine Saponinsubstanz enthalten, die der Frucht ihren praktischen Wert verleiht. Sie wurde denn auch schon bei den alten Indern als Antidot bei vergifteten Wunden angewandt. Im Mittelalter wurden die Seifennüsse dann unter dem Namen Nuculae Saponariae s. Sapindi offizinell und vielfach in der Medizin benutzt. Ihr Infus oder Dekokt wurde innerlich bei Cachexie und schweren Koliken, der Schaum des Dekokts äußerlich gegen Kopfschmerzen und Fieber gegeben. Ja noch vor mehreren Dezennien spielte es in der Behand-

[1]) Dorpater Institutsarbeiten, Bd. 6, 1891, S. 1.

lung der Bleichsucht und des Schleimflusses der Harnorgane, sowie bei Blutungen eine nicht geringe Rolle.

Die Medizin der letzten Jahrzehnte maß der Droge keinen medizinischen Wert bei; sie ist deshalb aus den Pharmakopöen gestrichen. Dessenungeachtet spielt die Seifennuß in wirtschaftlicher und technischer Beziehung auch heute noch, wenn auch zunächst noch nicht bei uns, eine gewisse Rolle. Schon die Indianer benutzten die zerquetschten Früchte wie Seife zum Waschen des Körpers und der Leinwand. Daher leitet sich auch der Name der ganzen Pflanze ab: Sapindus = Sapo indicus = indische Seife. Auch in den englischen Kolonien Westindiens und Teilen von Südamerika dient die Droge zum Reinigen der Wäsche und Kleider. Sie soll sogar eine 60 mal stärkere Wirkung als die Seife entfalten. Seit verschiedene Sapindusnußarten aus unsern Kolonien importiert werden, versucht man das Saponin daraus als Waschmittel und als Zusatz zu Schaumgetränken zu verwerten. Endlich sei noch eine Anwendung angeführt, die in Zentralamerika häufig ist. Dort wird die Seifennuß unerlaubterweise auch beim Fischfang benutzt. Sie übt ins Wasser geworfen auf die Fische die für Saponine typische betäubende Wirkung aus, so daß diese an die Oberfläche kommen und mit der Hand gegriffen werden können. Bringt man den Fisch wieder in frisches Wasser, so schwindet die Betäubung. Er kann aber auch sofort ohne Schaden gegessen werden.

In der Technik wurden die Kerne der Früchte, welche saponinfrei sind, früher in England in Metall eingefaßt zu Westenknöpfen verarbeitet. Zu diesem Zweck wurden sie von den Chinesen in großen Mengen aus Ostindien exportiert und ein schwunghafter Handel damit getrieben.

Ehe ich über die Chemie des Sapindussaponins

rede, sei es mir verstattet, einige Bemerkungen über Saponine im allgemeinen voranzuschicken. Es haben sich im Laufe der Zeit in zahllosen Pflanzen Saponine auffinden lassen.

Zuerst hielt man die in den verschiedenen Pflanzen gefundenen Saponine zwar für unter sich sehr ähnlich, doch nicht für chemisch identisch. Erst auf Grund zahlreicher Analysen, die G. Dragendorff machen ließ, glaubten später einzelne an ihrer Identität nicht mehr zweifeln zu dürfen. Trotzdem stellte man das künstliche Saponin immer mehr und mehr nur aus einer einzigen oder zwei Drogen dar. Es ist dies das aus der billigen Quillajarinde von Quillaja Saponaria, sowie das aus der weißen Seifenwurzel. Sapindussaponin existiert im Handel erst seit kurzem. Die älteren vor Kruskal üblichen Darstellungsmethoden haben, wenigstens was die Gewinnung des Rohsaponins betrifft, sehr viel Ähnlichkeit untereinander. Im Prinzip versuchten die meisten aus dem wässrigen Extrakt durch Auskochen mit verdünntem Alkohol und nachfolgendes starkes Abkühlen des filtrierten Dekoktes das Saponin zu gewinnen. Es ist selbstverständlich, daß das so gewonnene Saponin niemals ganz rein sein konnte, da ja in ihm auch alle andern in heißem Alkohol löslichen Stoffe der betr. Droge enthalten sein konnten. Man sann deshalb auf Reinigungsmethoden des so erhaltenen Produktes. Hier gingen nun die Wege sehr auseinander. Einige Verfahren seien hier erwähnt. Bley reinigte das Rohsaponin durch Auflösen desselben in Wasser, Fällen mit neutralem Bleiacetat, das nur Verunreinigungen beseitigen sollte, Abfiltrieren und Versetzen des Filtrats mit Bleiessig, Sammeln des dadurch entstandenen Niederschlages, Verteilen desselben in Wasser, Zerlegen durch Schwefelwasserstoff und Fällen des Schwefelbleies durch

Alkohol. Nachdem das Filtrat verdunstet war, blieb das Saponin fast weiß zurück. Es sei hierzu bemerkt, daß die Zerlegung von Saponinblei mittels Schwefelwasserstoff bei ungeschickter Handhabung erhebliche Fehler bedingt. Ja selbst Schwefelwasserstoff allein auch ohne Blei vermag, wie erst kürzlich A. W. v. d. Haar[1]) wieder betont hat, die pharmakologischen Wirkungen der Saponine zu schädigen. Unser Institut zersetzt seine Bleisaponine jetzt immer mittels Natriumkarbonat.

Einen wesentlichen Fortschritt in der Reinigung des Rohsaponins bedeutete die durch von Payr angewandte Barytmethode, oder sie schien wenigstens einen solchen Fortschritt zu bedeuten. Payr löste das unreine Saponin in möglichst wenig Wasser und mischte die Lösung mit heiß gesättigtem Barytwasser. Der Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt, mit Barytwasser gewaschen und in Wasser gelöst. In diese Lösung wurde CO_2 geleitet, und nach dem Erwärmen das entstandene Baryumkarbonat abfiltriert. Nun wurde zum Schluß das erhaltene konzentrierte Filtrat mit ätherhaltigem Alkohol versetzt. Im Jahre 1883 beschrieb E. Stütz ein neues Verfahren zur Reindarstellung des Saponins. Es ist dies die Umwandlung des Saponins in die Acetylverbindung und Regeneration aus derselben. Nach drei verschiedenen Modifikationen führte er das Saponin in die Acetylverbindung über. Die Regeneration geschah durch Kochen mit Barytwasser, bis Lösung eintrat. Die filtrierte Lösung wurde mit einem Überschuß von Barytwasser versetzt, der gebildete Saponinbaryt mit CO_2 zersetzt.

---

[1]) A. W. v. d. Haar, Archiv der Pharmazie, Bd. **251**, 1913, Heft 9, S. 648.

Beim Vergleich der verschieden hergestellten Saponine zeigte sich nun eine merkwürdige Tatsache. Es erwiesen sich nämlich die nach nur einer Methode sogar aus verschiedenen Pflanzen gewonnenen Saponine besonders in ihren chemischen, aber auch in anderen Eigenschaften ziemlich identisch. Andererseits aber wiesen die Saponine bei der Anwendung verschiedener Methoden sogar bei ein und derselben Pflanze große Unterschiede auf. Diese traten weniger in ihrer chemischen Formel als in der physiologischen Wirkung zu tage. Kobert konnte 1884 durch eingehende Untersuchungen diese Widersprüche erklären. In seiner Arbeit „Über Quillajasäure" wies er nach, daß besonders die von Stütz und von Payr angewandten Reinigungsverfahren nicht ohne Einfluß auf den Charakter des Saponins waren. Das Barytverfahren setzt, wie Kobert nachweisen konnte, die Wirksamkeit des Saponins ganz bedeutend herab. Zweitens bewies Kobert, daß auch die Stütz'sche Methode die Giftigkeit des Saponins aufhebt. Als weiteres Resultat seiner Untersuchungen machte Kobert die Entdeckung, daß in dem bisher unbeachtet gebliebenen Filtrat der abgekühlten Alkoholauszüge aus Quillaja noch ein in Alkohol besser löslicher Stoff von Saponincharakter enthalten war, der auf Tiere sehr giftig wirkte. Er zog daraus den Schluß, daß das Saponin der verschiedenen Autoren, wenigstens aus der Quillajarinde, kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemisch von mindestens zwei, nach der Schraderschen Methode schlecht trennbaren Substanzen ist. Schließlich fand Kobert eine Methode ihrer Isolierung durch Fällung erst mit neutralem Bleiacetat und des Filtrates durch Bleiessig und nannte die erste Substanz Quillajasäure, die andere Quillaja-Sapo-

toxin[1]). Die Richtigkeit und Bedeutung dieser Unterscheidung zweier Saponine in der Quillajarinde hat sich in der Folgezeit bald gezeigt.

Von den späteren Darstellungsmethoden einzelner Saponine sei wenigstens noch die Magnesiamethode von Greene, auf die ich unten noch zu sprechen komme, und die sehr wichtige des Auskochens mit Methylalkohol und Ausfällung der eingeengten Lösung durch Äther erwähnt. Erst nach dieser allgemeinen Besprechung der Darstellungsmethoden der Saponine dürfte Kruskals Darstellung des Saponins von Sapindus Saponaria verständlich werden.

Zunächst arbeitete er nach der Bleimethode. Dazu werden die Sapindusnüsse in heißem Wasser aufgeweicht, die Kerne entfernt und die zurückgebliebene Masse mit Wasser 10 mal je eine Stunde gekocht. Die wässrigen Dekokte werden gereinigt und mit neutralem Bleiacetat versetzt. Es entsteht eine grau-braune Fällung, die meist aus anorganischen Salzen und Farbstoffen besteht. Es wird filtriert, und der Filterrückstand zuerst mit bleiacetathaltigem, nachher mit reinem Wasser ausgewaschen. Die Waschwässer kommen zu dem ersten Filtrat, welches eine ganz klare durchsichtige Flüssigkeit ergibt. Nachdem durch neutrales Bleiacetat kein Niederschlag mehr entsteht, wird die Flüssigkeit auf dem Dampfbade konzentriert und sodann mit einem Überschuß von Bleiessig versetzt. Es bildet sich dabei ein voluminöser, weißer Niederschlag, der eine Verbindung von Sapotoxin mit Bleioxyd darstellt. Das Filtrat enthält nichts Saponinartiges mehr. Der abfiltrierte

[1]) Das Wort Saponin, welches für das Stützsche ganz wirkungslose Präparat festgelegt war, mied Kobert zunächst. Später hat er es als allgemeine Bezeichnung der Gruppe wiedereingeführt.

Niederschlag wird zuerst mit Wasser, nachher mit Alkohol so lange gewaschen, bis bei Zusatz von ammoniakalischem Bleiessig keine Trübung mehr eintritt. Nachdem das Blei des Bleiessigniederschlages mittels Schwefelsäure und Schwefelwasserstoff entfernt worden ist, wird die Flüssigkeit zur Syrupkonsistenz eingedunstet und mit absolutem Alkohol ausgekocht. Die Flüssigkeit wird heiß filtriert und nach dem Abkühlen so lange mit Äther versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Es wird filtriert und der Filterrückstand im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Diese Masse wird zu einem feinen Pulver verrieben, welches eine weißliche Farbe besitzt. Es ist nicht unwichtig zu bemerken, daß das ganze reine Sapindussaponin sich durch Bleiessig außerordentlich viel schwerer oder gar nicht mehr fällen läßt, während der Fruchtauszug eine quantitative Verarbeitung nach dieser Methode verstattet.

Eine zweite Methode, welche Kruskal verwandte, war die Magnesiamethode von Greene, die dieser Autor schon im Jahre 1878 bei der Darstellung des Saponins aus Chamaelirium luteum angewandt hatte. Die Seifennüsse werden dazu in heißem Wasser aufgeweicht, von den Kernen befreit und die zurückgebliebene Masse 10 mal je eine Stunde gekocht. Die filtrierten wässrigen Dekokte werden vereinigt, zur Hälfte auf dem Dampfbade eingedunstet, mit Magnesia usta versetzt und getrocknet. Die gepulverte Masse wird mit Alkohol ausgekocht. Nach dem Erkalten scheidet sich das Saponin in weißen Flocken aus. Diese werden in sehr wenig Wasser gelöst, mit heißem absoluten Alkohol aufgenommen und mit Äther aus dieser Lösung ausgefällt. Es resultiert ein weißliches Pulver.

Nach Kruskal hat man auch andere Sapindus-

nüsse auf Saponin verarbeitet, so z. B. L. Weil[1]) die von Sapindus Mukorossi Gaertn. und O. May[2]) die von Sapindus Rarak D. C. Dabei erwies sich warme Extraktion des Fruchtfleisches mit 90 %igem Alkohol nach vorheriger Abstumpfung der sauren Reaktion durch Magnesia usta als sehr rationell. Die alkoholischen Auszüge wurden durch Schütteln mit Petroläther von harzigen Verunreinigungen befreit und dann das Saponin durch Äther gefällt. Durch längeres Kochen mit Bleihydroxyd konnte eine weitere Reinigung erzielt werden.

Nach O. May ist die Löslichkeit seines Saponins in Methylalkohol 4,61 %, absol. Äthylalkohol 1,75 %, in 96 %igem 2,86 % (mit H_2O-Gehalt steigend). Im Äther, Petroläther, Essigäther, Chloroform, Benzol und Schwefelkohlenstoff ist es völlig unlöslich. Dies trifft auch für das Kruskalsche Präparat zu. Beide Präparate besitzen eine weiße Farbe. Der Staub der Pulver erregt Niesen. In Wasser sind beide leicht löslich. Die wässrige dünne Lösung schmeckt zunächst mild, dann aber erzeugt sie nachhaltiges Brennen und Kratzen im Halse. Sie schäumt beim Schütteln noch bei einer Verdünnung der Substanz von 1 : 10 000. Je konzentrierter die Lösung ist, desto mehr besitzt sie die Fähigkeit, unlösliche Körper in Suspension zu halten. Die wässrige Lösung dialysiert nicht.

Konzentrierte Schwefelsäure löst das Sapindussaponin himbeerrot auf. Am besten gelingt diese Reaktion im Uhrglas. Rauchende Salpetersäure löst das Sapindussaponin farblos. Konzentrierte Salz-

[1]) L. Weil, Beitr. z. Kenntnis der Saponinsubstanzen. Diss. Straßburg 1901.

[2]) O. May, Chemisch-pharmazeutische Untersuchung der Früchte von Sapindus Rarak D. C. Archiv der Pharmazie, Bd. 244, 1906, S. 25.

säure löst in der Kälte farblos; beim Erwärmen wird die Flüssigkeit kirschrot. Konzentrierte Essigsäure gibt keine Veränderung. Kali- und Natronlauge lösen die Substanz leicht auf, Zusatz von verdünnter Säure verändert die Lösung nicht. Gesättigte Barythydratlösung gibt einen weißen, in Wasser löslichen Niederschlag. Kaliumpermanganat wird von Sapindussaponin entfärbt.

Auf die Formel der Sapindussaponine wollen wir hier nicht eingehen, wohl aber sind die Spaltungsprodukte für uns hier von Interesse. Sowohl Kruskal als Weil haben Spaltungen vorgenommen. Kruskal erhitzte das Sapindussapotoxin mit 2 %iger Salzsäure im zugeschmolzenen Rohre bis auf 140° drei Stunden lang. Er erhielt 24,12 % Sapindussapogenin und 65,38 % Zucker, den er als ein Gemisch von Dextrose und Gallaktose ansprach. Er fand, daß beim Erhitzen im zugeschmolzenen Rohre bei höherer Temperatur auch ohne Säure eine Abspaltung von Zucker eintritt. Weil spaltete umgekehrt unter vermindertem Druck bei Anwesenheit von 1 %iger Schwefelsäure. Nach ihm löst sich das frisch gewonnene Sapogenin in heißem Wasser zu einer trüben, schäumenden Flüssigkeit und wird erst durch scharfes Trocknen wasserunlöslich. Dabei wird es zu einem weißgelben Pulver, das in Alkohol und bis auf einen Rest auch in Chloroform gut löslich ist. In Äther ist es etwas löslich. Aus alkoholischer Lösung scheidet es sich nach Kruskal bei vorsichtigem Einengen kristallinisch ab. Es gibt die Schwefelsäurereaktion. Den Spaltungszucker scheint Weil für einheitlich gehalten zu haben; May fand, daß es ein Gemisch aus Pentose und Hexose ist. Kochte Weil das Sapindussapotoxin mit Alkalien, so entstand bei nachträglicher Übersättigung mit Säuren

ein Geruch nach flüchtigen Fettsäuren. Bekanntlich gehen die meisten Saponine beim Erhitzen mit Ätzlauge eine solche Spaltung ein.

Die ersten pharmakologischen Versuche über die Wirkung des Sapindussaponins bei intravenöser Injektion stammen von Kruskal. Als Versuchstier dient die Katze. Es werden verschiedenen Tieren 6 bezw. 10, 20, 33, 46 mg Gift pro kg Tier in die Vena jugularis injiziert. Erst von 20 mg an zeigten die Tiere vorübergehende Appetitlosigkeit, mit 33 mg trat Erbrechen hinzu, doch erholten sich die Tiere wieder. Die Dosis von 46 mg pro kg Tier führte nach 48 Stunden den Tod herbei, nachdem zuerst Erbrechen, Schwäche und einige Stunden vor dem Exitus Lähmung eingetreten war. Die Sektion ergab mäßige Hyperämie im Magen und unteren Dünndarm, sonst alles normal.

Demnach mußte das Sapindussaponin im Vergleich zu andern Saponinen, von denen schon ein Milligramm pro kg Tier letal wirkt, als nur mittelstark giftig bezeichnet werden.

Um die Wirkung der Substanz bei Applikation per os zu studieren, wurden einem 1500 g schweren Kaninchen mittels Sonde 632 mg Sapindussapotoxin von Kruskal in den Magen gebracht. Es traten keinerlei Krankheitserscheinungen auf.

Der Versuch zeigt, daß die Giftigkeit unseres Saponins vom Magen-Darmkanal aus für Kaninchen eine sehr geringe ist. Dieses Saponin wird im bakterienreichen Darm der Pflanzenfresser eben nur langsam resorbiert und bei der enormen Länge des Darmkanales von den Darmbakterien wohl quantitativ zerlegt und dabei entgiftet. Im großen und ganzen scheint dieser Satz

für fast alle Saponine bei den reinen Pflanzenfressern Geltung zu haben.

Unter die Haut des Rückens gespritzt wurden von mittelgroßen Fröschen 10 mg Sapindussaponin ohne jegliche Vergiftungserscheinungen vertragen. Zwei andere Frösche von mittlerer Größe wurden bei Injektion von je 30 mg unter die Rückenhaut nach 6 Stunden bewegungslos. Am folgenden Tage trat jedoch wieder völlige Euphorie ein.

Nach der Methode Türck-Setschenow wurden nun die beiden Extremitäten eines geköpften, am Bande aufgehängten Frosches in 1 % HCl. getaucht. Unter die Haut des einen Unterschenkels wurde dann die Giftlösung injiziert und die Erniedrigung der Erregbarkeit im Vergleich von dem nicht vergifteten Bein festgestellt. Dabei ergab sich, daß für einen Frosch von 30—40 g mindestens 5 mg der Giftlösung nötig sind, um nach einer Einwirkung von 10 Min. eben eine Herabsetzung der Erregbarkeit durch die HCl herbeizuführen. Auf schwache elektrische Ströme reagierte das Bein selbst nach Stunden noch prompt. Dosen von 10 und 15 mg, die 10 Minuten eingewirkt haben, setzen die Erregbarkeit so herab, daß beim Eintauchen der Beine in die HCl bei dem vergifteten Bein nach etwa einer halben Minute überhaupt keine Zuckung mehr auftritt. Auch schwache elektrische Ströme rufen keine Zuckung hervor. Nach einigen Stunden rufen selbst die stärksten Ströme keine Bewegungen mehr hervor.

Diese Versuche zeigen, daß das Sapindussapotoxin bei Einspritzung größerer Dosen unter die Haut des Unterschenkels auf die sensiblen Nerven des Frosches rasch einen lähmenden Einfluß ausübt, während die Motilität etwas später und weniger intensiv geschädigt wird. Bei der Einspritzung unter die Haut des Rückens

erfolgte überhaupt keine Wirkung, was wohl zu der Annahme berechtigt, daß das Gift vom dorsalen Lymphsack aus schnell resorbiert und ausgeschieden oder im Froschkörper entgiftet wird. Die Einspritzung unter die Haut des Unterschenkels des Frosches und die Beobachtung der danach eintretenden Nervenlähmung war früher die übliche Methode des Saponinnachweises, bis Kobert den Hämolyseversuch einführte.

Bei Warmblütern verläuft der Einspritzversuch unter die Haut natürlich ganz anders. Einem Kaninchen wurden von Kruskal pro kg Gewicht 88,2 mg unter die Rückenhaut steril injiziert. Das Tier blieb munter. Nach einiger Zeit bildete sich an der Injektionsstelle ein Abszeß, der nach einigen Wochen ausheilt. Im übrigen zeigte das Tier gar keine Krankheitssymptome. In den ersten Tagen war leicht zu konstatieren, daß keine Anästhesie an der Injektionsstelle eintrat, sondern im Gegenteil Hyperästhesie und eine Reaktion in Gestalt einer Eiterung, die aber als eine sogenannte sterile Eiterung wohl aufzufassen ist eben hervorgerufen durch die lokalreizende Giftlösung. An Menschen rufen alle stärker wirkende Saponine unter der Haut heftige Schmerzen und lokale Entzündung hervor. Dies gilt auch z. B. für die saponinhaltige Digalenlösung.

Bei äußerlicher Applikation von Saponinlösung auf die Froschhaut erfolgt keine lokal anästhesierende Wirkung. Mithin kommt also unserm Saponin keine kokainartige Wirkung zu, wie man früher irrtümlich vermutet hatte.

Was die Wirkung des Sapindussapotoxins auf die Muskulatur anlangt, machte Kruskal folgende Versuche:

Von den beiden präparierten Musculi sartorii eines Frosches wird der eine jeweils in eine Sapindussapotoxin-Kochsalzlösung, der andere zur Kontrolle nur in Kochsalzlösung gelegt. Dabei gibt der Muskel in der 1 %igen und 0,5 %igen Giftlösung nach 5 Min. auf leichten Reiz keine Zuckung mehr. Nach kurzer Zeit reagiert er selbst auf die stärksten Ströme nicht mehr. Eine 0,25 %ige Giftlösung hebt bei dem viel stärkeren Musculus gastrocremius die Erregbarkeit in 30 Min. auf. Ja selbst in einer nur 0,1 %igen Lösung erlischt die Erregbarkeit des Musculus vastus externus nach 1 Stunde 45 Minuten selbst für die stärksten faradischen Ströme vollkommen.

Aus diesem Versuch resultiert, daß unser Saponin die Muskelsubstanz in ihrer Vitalität nicht nur schädigt, sondern sie sogar rasch total abtötet. Diese Abtötung bewirkte das Sapindussaponin noch in einer 1000fachen Verdünnung. Selbstverständlich werden die kleinen und dünnen Muskel in ihrer Vitalität leichter und schneller geschädigt als die großen und dicken. Die durch dieses Muskelgift entstehende schädliche anatomische Wirkung ist irreparabel. Sie kommt gleichmäßig allen stärker wirkenden Saponinen bei direktem Kontakt zu.

Um die Wirkung auf die motorischen Nerven zu studieren, wurde der in Zusammenhang mit dem Musculus gastrocremius herausgeschnittene Nervus ischiadicus eines Frosches in eine 1 %ige Lösung von Sapindussapotoxin in physiologischer Kochsalzlösung gelegt, während der Muskel in reine Kochsalzlösung kam. Die Erregbarkeit der Nerven hört nach 3 Stunden 20 Min. völlig auf, der Muskel reagiert von dieser Zeit selbst noch auf die schwächsten Ströme. Ein Kontrollnerv hält sich in physiologischer Kochsalzlösung viele

Stunden lang. Die protoplasmaschädigende Einwirkung des Saponins der Seifennüsse hebt also auch die Lebensfähigkeit nicht nur der sensiblen Nerven und der Muskeln, sondern auch die der motorischen Nervenstämme, falls diese Gebilde isoliert in die Giftlösung eingetaucht werden, auf. Die dicke Nervenscheide vermochte durch ihre schützende Umhüllung die tötende Wirkung nur etwas zu verzögern. Doch übte das Saponin diese Wirkung noch in 100facher Verdünnung aus.

Um die Wirkung des Sapindussapotoxins auf das überlebende Herz des Frosches zu studieren, wurde von Kruskal ein an den Williams'schen Apparat angefügtes Froschherz mit unverdünntem Rinderserum durchströmt und in Abständen von 5 bis 10 Minuten nun der Durchströmungsflüssigkeit je einige Milligramme Sapindussapotoxin zugesetzt. Dabei zeigte sich, daß erst Mengen von 60 mg auf 50 ccm Blutserum schwer schädigend auf das Herz einwirkten. Wurde das vergiftete Herz jetzt wieder mit normaler Blutmischung durchspült, so erholte sich sogar das Organ wieder ganz gut, aber bei neuer Hinzugabe von nur 20 mg trat jetzt vollständige Lähmung ein. Geh. Rat Kobert hat später denselben Versuch wiederholt, wobei statt Rinderserum Ringersche Lösung verwandt wurde. Bei dieser Anordnung lähmten schon wenige Milligramme unseres Saponins das Herz unwiderbringlich.

Bei den Angaben über die Wirkung auf die Nerven und die Muskulatur lernten wir unser Saponin als ein allgemeines Protoplasmagift mit deletärer Wirkung kennen. Daß dies auch für das Herz der Fall sein würde, war zu erwarten. Nun fällt hierbei auf, daß die Empfindlichkeit des Herzens bei Kruskals Versuch eine viel geringere war. Den Schlüssel zu diesem auffallenden

Verhalten bietet der hohe Cholesteringehalt des benutzten Serums, der ja nach Ransom antidotarisch gegen alle Saponine wirkt. Mit Ringerlösung ergaben daher schon viel kleinere Dosen Abtötung. Genug, auch das Herz unterliegt, falls es nicht durch Serum geschützt ist, der protoplasmavernichtenden Wirkung des Sapindussaponins.

Da das Saponin sich also als ein allgemeines Protoplasmagift erwiesen hatte, mußten wohl auch die roten Blutkörperchen dadurch verändert werden. In der Tat wurden bei Kruskals Versuchen die roten Blutkörperchen soweit verändert oder teilweise aufgelöst, daß das Blut lackfarben wurde. Diese Versuche wurden immer mit defibriniertem 50 bis 100fach mit physiologischer NaCl-Lösung verdünntem Blute und zwar zunächst mit Rinderblut angestellt. Kleine Proben von 5—10—20 ccm wurden in Reagenzgläser gefüllt und das Gift in verschiedener Konzentration hinzugefügt. War die benutzte Dose des Giftes unwirksam, so schied sich nach 6—12—24 Stunden oben farbloses Serum ab, während die Blutkörperchen als dichte Masse am Boden lagen. Bei den wirksamen Proben bildete sich eine rote Lösung mit weißem oder überhaupt ohne Bodensatz. Für das Sapindussapotoxin konnte von Kruskal eine scheinbar völlige Lösung der roten Blutkörperchen bei dieser Art der Versuchsanordnung mit Rinderblut noch bei einer Verdünnung von 1:14000 erzielt werden. Mit vom Serum befreiten noch 1—2 %ig in physiologischer NaCl-Lösung suspendierten Blutkörperchen des Rindes konnte Kruskal eine noch stärkere Saponinwirkung erzielen. Nun ist aber das Rinderblut gegen alle Saponine weniger empfindlich als z. B. Meer-

schweinchen- oder Katzenblut. Bei den gutgewaschenen Körperchen dieser Blutarten geht daher die Empfindlichkeit noch viel weiter.

Um über die Beeinflussung des Blutdruckes durch unser Gift etwas zu erfahren, wurde bei einem Hund ein Manometer in die Carotis communis dextra, und eine Injektionskanüle in die Vena jugularis sinistra eingeführt. Das Tier wurde dann tracheatomiert, kurarisiert und die künstliche Atmung eingeleitet. Von Zeit zu Zeit wurde durch die Kanüle (also intravenös) das Gift eingespritzt. Dabei ergab sich, daß das Sapindussapotoxin selbst bei hohen Dosen in der ersten halben Stunde auf den Blutdruck und den Puls nur sehr wenig einwirkt. Kurz vor dem Tode des Tieres, der 190 mg erforderte, war der Blutdruck allerdings beträchtlich erniedrigt. Zu dieser Zeit aber lagen, wie die Sektion ergab, die schwersten pathologisch-anatomischen Veränderungen des Herzens bereits vor. Aber kurze Zeit vorher war der Puls noch normal, was zunächst doch sehr auffallend erscheint! Indessen wird dieses Verhalten sehr verständlich, wenn man bedenkt, daß die Saponine eine lange Inkubationszeit nötig hatten, und daß der Cholesteringehalt des Blutes zunächst entgiftend wirkt. Wer daher von unserer Substanz als allgemeinem Protoplasmagift erwarten würde, daß sie sofort sehr energisch auf die Gefäße und deren Nerven einwirkt, würde sich irren. Dazu stimmt, daß alle Tiere nach Einspritzung der gerade eben letalen Dose direkt ins Blut sich noch stundenlang ziemlich normal verhielten.

III. Einige Vorversuche mit käuflichem Sapindussaponin.

Ich verwandte zu meinen Versuchen das käufliche Sapindussaponin der Schweizer Firma Hoffmann-La Roche. Dieses Präparat ist zwar nicht chemisch rein, aber es enthält nur geringe Mengen von fremden Bestandteilen (Feuchtigkeit, Zucker, Asche). Es bildet ein schönes weißes Pulver, ist gut löslich und von neutraler Reaktion. Der Firma sei für kostenlose Überlassung bestens gedankt. Aus welcher Spezies es hergestellt ist, ist auf dem Etikett nicht gesagt. Es scheint nicht von Sapindus Saponaria zu stammen.

Um nachzuweisen, ob dieses Saponin durch Abspaltung seines Aglykons, des Sapogenins, gut nachgewiesen werden kann, wird folgender Versuch gemacht:

Versuch 1. In 25 ccm Aqu. dest. werden 0,5 g Sapindussaponin gelöst. Die mit dieser Lösung angestellte Fehlingsche Probe ist schwach positiv, d. h. es war eine Spur Zucker als Verunreinigung vorhanden. Nach Zersetzung von 5 ccm dieser Lösung durch einstündiges Kochen mit verd. Schwefelsäure hat sich eine voluminöse Ausscheidung gebildet. Nach Abfiltrieren dieser ergibt das Filtrat mit Fehling reichlich Zucker. Der Filterrückstand wird mit Wasser durchgewaschen, mit Natriumcarbonat neutralisiert und gelöst und mit physiologischer Kochsalzlösung nachgespült, bis 5 ccm Filtrat vorhanden sind. Diese klare Flüssigkeit bringt nach Zusatz von 2 Tropfen Placentarblut sofort totale Hämolyse hervor.

Ergebnis. Das Sapogenin des Sapindussaponins wirkt hämolytisch. Man könnte also beim Nachweis von

Saponin im Harn sich allenfalls der Zerkochungsmethode bedienen, um aus dem Harn das Sapogenin abzuscheiden und durch die hämolytische Probe den Niederschlag als Sapogenin zu identifizieren.

Versuch 2. Ein Teil der in Versuch 1 verwandten Saponinlösung wird mit neutralem Bleiacetat versetzt. Es entsteht kein Niederschlag. Nun wird Bleiessig im Überschuß zugesetzt. Es entsteht wiederum kein Niederschlag, wenigstens nicht in den ersten 5 Minuten, wie dies sonst bei den meisten Saponinen der Fall ist. Jetzt werden der Mischung auf 50 ccm Flüssigkeit auch noch 5 Tropfen freies Ammoniak zugesetzt. Auch jetzt entsteht keineswegs sofort ein voluminöser Niederschlag, sondern erst nach längerem Stehen. Letzterer ist aber nicht beweisend, da er auch ohne Saponin durch Bildung von Bleihydroxyd langsam eintritt.

Ergebnis. Das Sapindussaponin der Firma Hoffmann-La Roche läßt sich durch Bleiacetat weder neutral noch alkalisch sicher ausfällen, müßte also, falls man es im Harn sucht, auch im Filtrat der Bleiessigfällung noch vermutet werden. Unter allen Umständen erscheint diese Fällungsmethode unpraktisch für die Zwecke der nachstehenden Arbeit. Auch May hat sich dahin ausgesprochen, daß für dieses Saponin Blei ein wenig geeignetes Fällungsmittel ist. Ich begnüge mich daher einen derartigen Versuch hier folgen zu lassen.

Versuch 3. Neben einander werden folgende drei Gemische hergestellt.

1. Normaler, schwach sauer reagierender Hundeharn wird mit Bleizucker versetzt. Es tritt ein voluminöser weißer Niederschlag (a) von Phosphaten, Sulfaten, Farbstoffen usw. ein.

2. Ebenso werden 10 ccm einer 1 %igen schwach sauer reagierenden Lösung von Sapindussaponin in physiologischer Kochsalzlösung mit Bleizucker versetzt, wobei

sich auch ein mittelstarker, weißer Niederschlag (b) bildet. Dieser besteht wohl aus $PbCl_2$.

3. 15 ccm normalen Hundeharns werden zu 10 ccm einer 1 %igen mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten Sapindussaponin-Lösung zugesetzt. Dieses Gemisch wird mit Bleizucker versetzt. Sofort tritt ein starker, weißer Niederschlag (c) auf, weil außer $PbCl_2$, ja auch die Phosphate, Sulfate und Farbstoffe gefällt werden.

Die 3 klaren Filtrate (d, e, f), welche mit Bleizucker keinen weiteren Niederschlag geben, werden nun mit Bleiessig versetzt. Dabei tritt bei d (normaler Hundeharn ohne Saponin) ein deutlicher weißer Niederschlag (d_1) auf. Filtrat e (nur Saponin) ergibt mit Bleiessig einen sehr schwachen, weißen Niederschlag (e_1). Das Gemisch beider brachte mit Bleiessig einen sehr starken weißen Niederschlag (f_1) hervor.

Nun werden die Rückstände auf den Filtern a, b und c mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt und mit physiologischer Kochsalzlösung nachgewaschen. Die erhaltenen Filtrate a_1, b_1, c_1 werden dann jeweils wieder mit Natriumcarbonat neutralisiert und je in zwei Hälften geteilt. Die eine wird mit 2 Tropfen frischen Rinderblutes versetzt, die andere mit konzentrierterer Schwefelsäure noch etwas erhitzt.

Dabei tritt bei a_1 und c_1 weder Hämolyse ein noch bei der chemischen Probe eine Fällung. Bei b_1 jedoch tritt alsbald Hämolyse auf, ebenso bringt auch der Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure nach Erhitzen und wieder Abkühlen einen leichten weißen Niederschlag von Sapogenin hervor.

Demnach mußte also bei 3 (Harn + Saponin) das Saponin in das Filtrat übergegangen, also durch den Bleizucker nicht ausgefällt worden sein.

Die 3 klaren Filtrate d, e, f, die mit Bleiessig Niederschläge gaben, werden nun weiter untersucht. Nach Abfiltrieren werden die Filterrückstände analog den Rückständen a, b, c untersucht, d. h. also mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt, mit physiologischer Kochsalzlösung nachgewaschen und mit Natriumcarbonat neutralisiert. Die erhaltene Flüssigkeitsmengen werden ebenfalls wieder halbiert und genau in derselben Weise wie oben die beiden Reaktionen auf Saponin angestellt. Bei keiner der 6 Proben wird ein Ausschlag erhalten. Auch Bleiessig hat also kein Saponin niedergeschlagen.

Die 3 Filtrate der Bleiessigfällung d_1, e_1, f_1 werden ebenfalls durch Schwefelsäure entbleit, neutralisiert und geprüft.

Dabei ergibt sich für den Normalharn nichts, für die Saponinlösung mit Schwefelsäure zerkocht ein feinflockiger Niederschlag, während die Blutprobe wohl deshalb mißlingt, weil so viel Neutralsalze entstanden waren, daß die Saponinhämolyse unmöglich wurde. Für das Gemisch von Harn + Saponin ergibt sowohl die Blutprobe wie die chemische die Reaktion auf Saponin.

Ergebnis. 1. Das Sapindussaponin der Firma Hoffmann-La Roche ist aus einer Lösung, die mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt ist, durch Bleizucker trotz der entstehenden Chlorbleibildung nur partiell ausfällbar.

2. In Hundeharn gelöst geht dieses Saponin weder in den mit Bleizucker, noch in den mit Bleiessig erhaltenen Niederschlag merklich über. Es findet sich vielmehr zum größten Teil im Filtrat der Bleiessigfällung.

Versuch 4. Er galt dem Nachweis mit konzentrierter Schwefelsäure.

a) Zu 1 ccm Sapindussaponin-Lösung, der 10 mg Substanz enthält, werden 4 ccm konzentrierter Schwefelsäure zugesetzt. Sofort tritt an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten ein dunkler, ins Rote gehender Ring auf. Beim Durchschütteln färbt sich die ganze Flüssigkeit im Reagenzglas ganz dunkel, fast schwarz. 1 ccm davon wird in ein Gläschen mit planparallelen Wandungen gebracht. Dabei sieht man, daß die Farbe der Flüssigkeit nicht schwarz, sondern dunkelrot ist. Vor dem Spektroskop erkennt man deutlich einen Absorptionsstreifen in Gelb, der scharfrandig beiderseits begrenzt ist. Ein 2. Absorptionsstreifen wird erst wahrnehmbar, wenn der Flüssigkeit im Spektralgläschen zur Verdünnung noch 1 ccm Alkohol zugesetzt wird. Dieser 2. Streifen liegt im Grün. Der erste Teil des Grün wird gerade noch durchgelassen, dann kommt der breite Absorptionsstreifen, so daß vom letzten Teil des Grün eben noch eine Spur zu erkennen ist.

b) 1 ccm Saponinlösung, der 10 mg Saponin enthält, wird mit 9 ccm Alkohol verdünnt. Von dieser Flüssigkeit, die also im ccm 1 mg Saponin enthält, wird 1 ccm mit 4 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Sofort tritt an der Berührungsstelle eine prachtvolle Schichtreaktion in Form eines roten Ringes auf. Nach dem Durchschütteln wird die ganze Mischung schwarzrot. Mit dem Spektroskop kann man in einem Gläschen mit plan-

parallelen Wandungen einen deutlichen Streifen in Grün erkennen, während der in Gelb in so dünnen Schichten nicht zu erkennen ist.

c) Dieselbe Reaktion mit nur 0,5 mg Saponin tritt nur noch als kaum sichtbare Ringreaktion mit roter Farbe auf.

Ergebnis. Mit Hilfe der Schwefelsäure-Reaktion ist noch 1 mg des Handelspräparates von Sapindussaponin sicher nachweisbar, aber natürlich nicht etwa von anderen Saponinen zu unterscheiden.

Versuch 5. Zu 25 ccm Sapindussaponin-Lösung, die im ccm 10 mg Saponin enthält, werden 3 ccm verd. Schwefelsäure zugesetzt und gekocht. Nach kurzem Kochen wird die ganze Flüssigkeit milchartig. Beim Abkühlen scheidet sich in großen Flocken ein voluminöser weißer Niederschlag vom Sapogenin ab.

Ein Teil des Filtrates wird neutralisiert und mit Fehlingscher Lösung erhitzt. Es erfolgt eine starke Reduktionsausscheidung von Kupferoxydulhydrat. Diese ist unendlich viel stärker als in der entsprechend starken Lösung des Handelssaponins. Mithin ist durch die Hydrolyse ein Zucker oder Zuckergemisch abgespalten worden und zwar eine Hexose oder eine Pentose oder beides. Eine weitere Portion des Filtrates wird mit starker Salzsäure und Orcin erhitzt, wobei eine Dunkelgrünfärbung eintritt.

Eine weitere Portion wird mit starker Salzsäure und Phlorglucin erhitzt. Dabei tritt eine anfangs rötliche, später rotbraune Färbung ein.

Diese beiden Reaktionen sind beweisend für die Anwesenheit von abgespaltenen Pentosen. Der Nachweis der Hexose durch Vergärung gelingt zunächst nicht, was jedenfalls auf den Einfluß von noch vorhandener, nicht genügend neutralisierter Schwefelsäure zurückzuführen ist. Bei Wiederholung trat Vergärung ein. Dies spricht für eine Hexose. Der Filterrückstand wird in Alkohol gelöst, etwas gewaschen und das Filtrat mit etwas Schwefelsäure unterschichtet. Es tritt ein deutlicher roter Ring auf, der die Anwesenheit des Sapogenins beweist.

Ergebnis. Durch unsere Spaltung ist einerseits ein Sapogenin, andererseits eine Pentose und eine Hexose entstanden. Die Glukoronsäurereaktion mit Naphthoresorcin habe ich nicht angestellt, da unser Saponin nicht in die Gruppe der Glukuronsaponine gehört.

IV. Blutversuche mit Sapindussaponin.

Es kam nun darauf an, mich über die Stärke der hämolytischen Kraft des Handelspräparates zu orientieren. Zu diesem Behufe wurde in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung 1 g Sapindussaponin gelöst und durch Erhitzen sterilisiert. In 1 ccm sind also 10 mg des Saponinpräparates enthalten. Mit dieser Lösung werden folgende Proben angestellt.

Versuch 6. Zu 1 ccm obiger Saponinlösung werden noch 9 ccm physiologischer Kochsalzlösung hinzugefügt. 2 Tropfen frisches Kaninchenblut werden in dieser Lösung nach Umschütteln sofort aufgelöst. Die Konzentration beträgt hier also 1: 1000.

Zu 1 ccm Saponinlösung werden 49 ccm physiologischer Kochsalzlösung hinzugesetzt. Nach Zusatz von 2 Tropfen Kaninchenblut und Umschütteln tritt nach 5 Minuten vollständige Hämolyse ein. Die Konzentration ist hier 1: 5000.

Bei derselben Versuchsanordnung erfolgt bei einer nochmaligen Verdünnung auf 1: 10 000 langsam totale Auflösung, aber bei Verdünnung auf 1: 20 000 selbst nach 24 Stunden keine totale Hämolyse.

Ergebnis. Das Sapindussaponin wirkt hämolytisch. Für Kaninchenblut beträgt die hämolysierende Wirkung, auch wenn das Serum nicht entfernt ist, mindestens **1: 10 000**. Folglich müssen sich mit Hilfe dieser Methode auch kleine Mengen unserer Substanz nachweisen lassen.

Für weitere Blutversuche wurde als Stammlösung eine sterile Saponinlösung hergestellt, die in 1 ccm 10 mg Saponin enthält. Daraus werden die weiteren Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung be-

reitet. Zu 5 ccm Gemisch werden, wo nichts anderes angegeben, immer 2 Tropfen defibriniertes Blut oder 1 Tropfen Blutkörperchen zugesetzt, so daß dies ungefähr einer 2 %igen Blutlösung entspricht. Die Versuchsanordnung ist für die Versuche immer dieselbe, so daß hier nicht alle in extenso angeführt werden brauchen.

Versuch 7. Pferdeblutkörperchen. Zu jedem Reagenzglas wird 1Tropfen Blutkörperchen zugesetzt.

1. Reihe.

Glas I	5 ccm	phys. NaCl-Lösung		zur Kontrolle		
„ II	5 „	Saponinlösung	50	mg	Saponin	enthaltend
„ III	5 „	„	25	„	„	„
„ IV	5 „	„	12,5	„	„	„
„ V	5 „	„	6,25	„	„	„
„ VI	5 „	„	3,125	„	„	„
„ VII	5 „	„	1,56	„	„	„

Glas I setzt klar ab, Glas II—VII werden sofort total hämolysiert.

2. Reihe.

Glas I	5 ccm	phys. NaCl-Lösung		zur Kontrolle		
„ II	5 „	Saponinlösung,	0,78	mg	Saponin	enthaltend
„ III	5 „	„	0,39	„	„	„
„ IV	5 „	„	0,195	„	„	„
„ V	5 „	„	0,0975	„	„	„
„ VI	5 „	„	0,0487	„	„	„
„ VII	5 „	„	0,0243	„	„	„

Glas I setzt klar ab, Glas II wird sofort total hämolysiert, Glas III nach 1 Minute, Glas IV über Nacht, Glas V wird nur noch partiell hämolysiert, Glas VI u. VII setzen klar ab.

Ergebnis: 1 %ige Pferdeblutkörperchensuspension wird von Sapindussaponin noch bei einer Verdünnung von 0,195 mg : 5 ccm = 195 : 5000 000, d. h. von **1 : 25 600** total und bei 1 : 51 200 Verdünnung partiell aufgelöst.

Versuch 8. Die gleiche Versuchsanordnung und Ausführung. Rinderblut. Das Serum ist hier also nicht entfernt. Jedem Glas werden 2 Tropfen Blut zugesetzt.

1. Reihe: Glas I setzt klar ab, Glas II—IV werden sofort, Glas V—VI in einer halben Minute, Glas VII in 1 Minute total aufgelöst.

2. Reihe: Glas I setzt klar ab, Glas II wird in 5 Minuten, Glas III in 12 Minuten total, Glas IV über Nacht partiell gelöst, Glas V—VII auch nach 24 Stunden unverändert.

Ergebnis: 2%iges Rinderblut wird von Sapindussaponin in einer Verdünnung von **1 : 12 800** total und bei 1 : 25 600 noch partiell gelöst.

Versuch 9. Placentarblut vom Menschen. Sonst dieselbe Ausführung.

1. Reihe: Glas I setzt klar ab, Glas II—V werden sofort, Glas VI—VII in ½ Minute total hämolysiert.

2. Reihe: Glas I setzt klar ab, Glas II wird in 1 Minute, Glas III in 2 Minuten total, Glas IV fast total über Nacht gelöst. Glas V—VII weisen auch nach 24 Stunden keine Zeichen von Hämolyse auf.

Ergebnis: 2%iges Placentarblut vom Menschen wird durch Sapindussaponin noch bei **1 : 12 800** total und bei 1 : 25 600 stark partiell gelöst.

Versuch 10. Schweineblut. Anordnung und Ausführung wie oben.

1. Reihe: Glas I setzt klar ab, Glas II—VII werden sofort total gelöst.

2. Reihe: Glas I u. IV—VII bleiben unverändert, Glas II wird in 2 Minuten, Glas III in 45 Minuten total gelöst.

Ergebnis: 2%iges Schweineblut wird von Sapindussaponin noch in einer Verdünnung von **1 : 12 800** total gelöst.

Versuch 11. Katzenblut. Aufstellung und Ausführung wie oben.

1. Reihe: Glas I setzt klar ab, Glas II—VII werden sofort total gelöst.

2. Reihe: Glas I u. VI—VII sind auch nach 24 Stunden unverändert. Glas II wird sofort, Glas III—IV binnen 1 Stunde total, Glas V ist nach 24 Stunden partiell gelöst.

Ergebnis: 2%iges Katzenblut wird durch Sapindussaponin noch in einer Verdünnung von

1 : 25 600 total aufgelöst. Bei einer Verdünnung von 1 : 51 200 erfolgt noch partielle Hämolyse.

Überblicken wir alle Blutversuche, so können wir sagen, daß unser Saponin auf sämtliche beliebig herausgegriffenen Blutarten erheblich hämolytisch einwirkt und auf die serumfreien Körperchen natürlich ebenfalls. Es ist also nach dieser Methode auch in kleinen Mengen noch nachweisbar.

V. Blutversuche mit Sapindussapogenin.

Das Sapogenin wurde für unsere speziellen Zwecke durch Spaltung aus dem Saponin auf folgende Weise gewonnen: 50 ccm 1 %ige Sapindussaponin-Lösung werden mit 3 ccm verd. Schwefelsäure zwei Stunden im Heißwasserbad zerkocht und dann der Abkühlung überlassen. Dabei setzt sich langsam ein voluminöser flockiger Niederschlag ab. Dieser wird am nächsten Morgen abgesaugt und zu dem Filterrückstand, der ja das Sapogenin enthalten muß, 50 ccm physiologische NaCl-Lösung zugesetzt nebst einigen Tropfen Natriumkarbonat, um das in saurer Lösung unlösliche Sapogenin zu lösen. Das ganz klare Filtrat ergibt bei nochmaligem Kochen keinen Niederschlag mehr. Es ist also kein Sapogenin mehr daraus zu gewinnen. Vom chemischen Standpunkte aus hätte ich versucht sein können, das Sapogenin nach dem Auswaschen von neuem in verdünnter Mineralsäure zu suspendieren und so lange zu kochen, bis keine Spur von Zucker mehr in Lösung ging. Dies Verfahren wäre das richtige gewesen, wenn ich ein Endsapogenin hätte gewinnen wollen. Da jedoch Endsapogenine in neutralen Flüssigkeiten sich nicht mehr lösen, mied ich absichtlich längeres Kochen. Das auf diese Weise von mir gewonnene Sapogenin ist ein ganz saponinfreies Anfangssapogenin. Meist geht die Abspaltung der Hexose leichter vor sich als die der Pentose. Von meinem

Sapogenin durfte ich hoffen, daß es sich unter Zusatz von Natriumkarbonat in physiologischer Kochsalzlösung neutral lösen und daß es hämolytisch wirken werde.

Im Filtrate dieses Sapogenins war allerdings mit Fehling Zucker reichlich nachweisbar und zwar war sowohl eine Hexose als eine durch die Orcinreaktion erkennbare Pentose vorhanden. Ob letztere nur in geringen Mengen abgespalten war, weiß ich nicht.

Da nach May der Saponingehalt des Sapindussaponins etwa 20 % (19,8) ist, müssen in dem mit 50 ccm NaCl-Lösung versetzten Filterrückstand je 2 mg im ccm enthalten sein. Diese Sapogenin-NaCl-Lösung reagiert neutral. Es werden damit folgende Blutversuche angestellt:

Versuch 12. Als Blutart werden mit 99 % phys. Kochsalzlösung versetzte Katzenblutkörperchen verwandt. Jedes Glas enthält 5 ccm dieser 1 %igen Katzenblutkörperchen.

1. Reihe.

Glas	I	5 ccm	Blutkp.	+	5 ccm	phys. NaCl-Lös.	zur	Kontrolle
„	II	5 „	„	+	5 „	Sapogeninlös., 10 mg Sapog.	enthaltend	
„	III	5 „	„	+	5 „	„ „ 8 „ Sapog.	enthaltend	
„	IV	5 „	„	+	5 „	„ „ 6 „ Sapog.	enthaltend	
„	V	5 „	„	+	5 „	„ „ 4 „ Sapog.	enthaltend	
„	VI	5 „	„	+	5 „	„ „ 2 „ Sapog.	enthaltend	
„	VII	5 „	„	+	5 „	phys. NaCl-Lös.	zur	Kontrolle.

Glas I u. VII setzen klar ab, Glas II nach 12, Glas III nach 25, Glas IV nach 40, Glas V nach 50 Minuten und Glas VI nach 1 ½ Stunden total hämolysiert.

Die Konzentration der Giftlösung betrug also hier bei

Glas	II	1:1000	Sapogenin	oder	berech.	auf	Saponin 1:200
„	III	1:1250	„	„	„	„	„ 1:250
„	IV	1:1666	„	„	„	„	„ 1:333
„	V	1:2500	„	„	„	„	„ 1:500
„	VI	1:5000	„	„	„	„	„ 1:1000

2. Reihe.

Glas I 5 ccm Blutkp. + 5 ccm phys. NaCl-Lös. zur Kontrolle
„ II 5 „ „ + 5 „ Sapogeninlös., 0,2 mg Sapog. enth.
„ III 5 „ „ + 5 „ „ 0,02 „ Sapog. enth.
„ IV 5 „ „ + 5 „ „ 0,002 „ Sapog. enth.
„ V 5 „ „ + 5 „ „ 0,0002 „ Sapog. enth.
„ VI 5 „ „ + 5 „ phys. NaCl-Lös. zur Kontrolle.

Glas I u. VI setzen klar ab, Glas II nach 3 Minuten total hämolysiert, Glas III—V bleiben unverändert.

Die Konzentration betrug also bei
Glas II 1: 50 000 Sapogenin od. 1: 10 000 auf Saponin berechnet.

Ergebnis: Das Sapogenin des Sapindussaponins wirkt hämolysierend auf Katzenblutkörperchen und zwar noch total bei **1: 50 000** Sapogenin, was 1: 10 000 berechnet auf Saponin entspricht, denn nur der fünfte Teil des Saponins wird Sapogenin.

Versuch 13. Benutzt wird 2 %iges Blut aus der menschlichen Placenta.

1. Reihe.

Dieselbe Versuchsanordnung wie bei den vorigen Versuchen in der 1. Reihe.

Glas I u. VII setzen klar ab, Glas II—VI sind nach 3 Stunden total hämolysiert.

2. Reihe.

Anordnung ebenso, nur andere Konzentration:
Glas II 1: 10 000 Sapogenin oder 1: 2 000 Saponin
„ III 1: 20 000 „ „ 1: 4 000 „
„ IV 1: 40 000 „ „ 1: 8 000 „
„ V 1: 80 000 „ „ 1: 16 000 „

Glas I u. VII klar abgesetzt, Glas II—IV nach einigen Min. total aufgelöst, Glas V partiell am nächsten Morgen, Glas VI unverändert.

Ergebnis: 2 %iges Menschenblut wird von Sapindussapogenin noch in einer Verdünnung von

1 : 40 000 total und 1 : 80 000 partiell aufgelöst (auf Saponin berechnet 1 : 8000 und 1 : 16 000).

Gesamtergebnis der Sapogenin-Blutversuche.

Das Sapogenin des Sapindus-Saponins hat eine stärkere hämolytische Wirkung als die gleiche Menge Saponin. Rechnet man jedoch auf die entsprechende Saponinmenge, die fünfmal größer ist, um, so hat das Sapogenin eine verhältnismäßig etwas schwächere Wirkung als das Saponin.

Immerhin kann man das Sapogenin zum Nachweis des Saponinabbaues im lebenden Organismus recht gut benutzen. Gerade auf die Feststellung dieses Punktes kam es mir bei meinen Versuchen an.

VI. Tierversuche.

Ich lasse zunächst einige Versuche an **Fröschen** folgen, und zwar an Temporarien.

Versuch 14. Einem Frosch männchen von 35 g Gewicht werden am 11. XII. 4 h nachm. 10 mg Sapindus-Saponin unter die Rückenhaut gespritzt. Gleichzeitig werden einem weiblichen Frosch von 68 g an der gleichen Stelle 20 mg injiziert. Um ½6 sind beide Frösche noch ziemlich normal. Der Versuch, den beiden Fröschen am Abend Harn auszudrücken, gelingt nicht. Das Froschweibchen ist am Abend schon sehr träge. Am nächsten Morgen war es tot. Bei der Sektion findet sich, daß unter der Rückenhaut alles resorbiert ist und daß an dieser Stelle keinerlei Entzündungserscheinungen eingetreten sind. Auch sonst finden sich keinerlei pathologisch-anatomische Veränderungen.

Der kleinere Frosch ist am Mittag des 12. noch ganz wohl. Um 4 h nachm. kann ihm schon 1 ccm Harn ausgepreßt werden. Mit 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt, zeigt sich an der Berührungsstelle ein nicht sehr starker, aber doch deutlicher roter Ring, der auf die Ausscheidung von Saponin hindeutet. Weiterer Harn konnte nicht gewonnen werden, auch am 13. früh nicht. Nachm. 4 h war auch dieser Frosch verendet. Bei der Sektion findet sich die obere Munddecke stark gerötet. Sonst sind keinerlei Veränderungen zu konstatieren.

Ergebnis: Die eingespritzte sehr große Dosis führte den Tod der beiden Tiere nicht sofort herbei, sondern bei dem kleineren Tiere recht langsam und trotzdem ohne starke Veränderungen vorher hervorzurufen. In dem ausgepreßten Urin schien Saponin oder ein Umwandlungsprodukt davon vorhanden zu sein.

Versuch 15. Einem Frosch von mittlerem Gewicht werden am 12. XII., vorm. ¾12 h, 1 ccm, enthaltend 10 mg Sapindus-Saponin, in den rechten Unterschenkel gespritzt. Es treten in der Folge weder allgemeine noch lokale Störungen ein. Harn kann durch Auspressen nicht gewonnen werden. Am Morgen des 15. wird der Frosch tot in normaler Lage vorgefunden. Außer leichter Rötung des Mundbodens konnte bei der Sektion nichts festgestellt werden.

Ergebnis: Auch in diesem Versuche wirkten 10 mg nicht lokal. Von der erwarteten Lähmung des Gliedes war nichts wahrnehmbar.

Versuch 16. Einem Frosch von 55 g Gewicht werden am 13. nachm. 5 h 30 m je 1 ccm 1%ige Sapindus-Saponin-Lösung in den rechten Ober- und in den Unterschenkel eingespritzt. Am 14. früh ist das Wohlbefinden noch nicht gestört. Am Nachm. war deutlich zu sehen, daß er das rechte Bein nachschleppt. Am 15. früh wird er tot vorgefunden mit ausgestrecktem rechten Bein. Die Sektion ergibt nichts.

Ergebnis: Die Saponinlösung hat hier allerdings lokal wahrscheinlich durch Wirkung auf die motorischen Nerven eine Lähmung des rechten Beines herbeigeführt. Aber dazu waren 20 mg nötig.

Alle drei Versuche zusammengenommen ergeben, daß ganze Frösche, wie das ja auch wohl von vornherein anzunehmen war, wenig geeignete Versuchstiere zum Nachweis von Saponinsubstanzen sind. Ganz anders wird dagegen die Sachlage, falls man die Nerven und Muskel oder das Herz dieser Tiere isoliert mit Saponin in Berührung bringt. Solche Versuche hatte ich jedoch keine Veranlassung zu machen, da die von Kruskal genügend sind zur allgemeinen Orientierung.

Ich komme jetzt zu einigen Versuchen an **Kaninchen.**

Versuch 17. 11. XII. Ein kleines schwarzes Kaninchen erhält am 11. XII., 5 h nachm., 5 ccm 1%iger Sapindussaponin-

NaCl-Lösung unter die Haut des Rückens injiziert. Am nächsten Morgen ist das Tier noch vollkommen wohl.

12. Der über Nacht gelassene Harn reagiert wie normal stark alk. und ist stark trüb. Durch Zusatz von etwas verdünnter Essigsäure wird er klar. Eingehend untersucht, finden sich weder Eiweiß noch sonst abnorme Bestandteile.

13. Da das Tier keinerlei Erscheinungen zeigt, werden ihm am 13. XII., 10 h vorm., weitere 10 ccm der 1%igen Lösung, d. h. also 100 mg unter die Rückenhaut gespritzt. Der Harn vor der Einspritzung wieder alkalisch und trüb. Er enthält kein Eiweiß und wirkt neutralisiert auf Blut nicht hämolytisch. Nachm. 3 h konnte nach der neuen Einspritzung schon eine kleine Menge neuer Urin untersucht werden. Er ist trüb alkalisch; er wird durch Essigsäure klar und neutral. Auch dieser Harn besitzt noch keine hämolytische Wirkung. Er wird mit neutralem Blei ausgefällt und filtriert. Das Filtrat ist klar. Der Filterrückstand sieht gelb aus. Er wird deshalb auf Gallenfarbstoff geprüft und zwar zuerst mit Alkohol gewaschen, dann mit Alkohol, der etwas Schwefelsäure enthält, zersetzt. Das dabei erhaltene Filtrat enthält aber (nach Gmelin) keinen Gallenfarbstoff.

14. XII. Das Tier ist wohl und hat über Nacht 45 ccm Harn gelassen, der wie immer trübe ist. Durch Essigsäure wird er klar und neutral. 5 ccm Harn, mit 2 Tropfen Katzenblutkörperchen versetzt, übt keine hämolytische Wirkung aus. Der übrige Harn wird mit neutralem Blei ausgefällt und abfiltriert. Der Filterrückstand sieht auch hier wieder gelb aus, enthält aber, ebenso wie oben untersucht, keinen Gallenfarbstoff.

16. XII. Der von 2 Tagen zusammengekommene Harn beträgt 300 ccm. Er sieht wie an den vorhergehenden Tagen aus und wird auch ebenso untersucht. Er enthält kein Eiweiß und besitzt auch keine hämolytische Wirkung auf Menschenblut. Der Bleizuckerniederschlag sieht vollkommen farblos aus und enthält keinen Gallenfarbstoff.

Im Wohlbefinden des Tieres ist bis jetzt keine Änderung eingetreten.

17. XII. 195 ccm alk., trüber Harn. Untersuchung auf Eiweiß und Hämolyse negativ, kein Gallenfarbstoff in dem Bleizuckerniederschlag.

18. XII. Das Tier ist immer noch ganz wohl. Die Urinmenge beträgt 145 ccm, ist trüb und reagiert alkalisch. Hämolytisch unwirksam. Eiweiß fehlt; kein Gallenfarbstoff in der Bleifällung.

19. XII. Tier noch wohl. Reichliche Urinmenge von 300 ccm, sehr trüb und alkalisch. Kein Eiweiß, keine Hämolyse. Bleifällung ganz weiß.

20. XII. Harn: 225 ccm, trüb, alkalisch, kein Eiweiß, keine Hämolyse. Gallenfarbstoff nicht vorhanden.

21. XII. 235 ccm trüber, alkalischer Harn. Keine Hämolyse, kein Gallenfarbstoff, kein Albumen. Das Tier ist ganz munter; unter der Haut keine Anschwellung.

22. u. 23. XII. Je 180 ccm alkalischer Harn, nur leicht getrübt. Nichts Besonderes.

Der Versuch wird abgebrochen.

Ergebnis: Die Menge von 150 mg Sapindussaponin, die dem Tier binnen 2 Tagen unter die Rückenhaut gespritzt wurde, hatte auch nach längerer Zeit anscheinend keinen schädigenden Einfluß, trotzdem man doch sicher annehmen muß, daß sie, wenn vielleicht auch nur langsam, resorbiert worden ist. Eine Ausscheidung eines hämolytischen Stoffes im Harn konnte nicht nachgewiesen werden, wie denn auch sonst der Urin keine pathologischen Bestandteile aufwies. Allerdings war die Menge des Urins einem normalen, mit gleicher Kost versehenen Kaninchen gegenüber gesteigert. Das Ausbleiben einer lokalen Entzündung unter der Haut nach einer so großen Menge von Substanz beweist, daß gerade das vorliegende Saponin in der verwandten Dose relativ wenig reizend wirkt. Daß es bei größerer Dose doch lokal reizend, ja nekrotisierend wirkt, zeigt der folgende Versuch.

Versuch 18. Der Harn eines mittelgroßen normalen Kaninchens, das nur als Kontrolltier dienen soll, von 1600 g Gewicht wird einige Tage hindurch nur daraufhin untersucht, ob er etwa an sich hämolytisch wirkt, was bei gewisser Fütterung vorkommen kann.

11. I. 13. 185 ccm stark alkalischer Harn. Schwach getrübt, wird durch Zusatz von Essigsäure klar und neutral. Sehr deutlich wirkt dieser Harn jetzt auf Menschen-

blut binnen 15 Minuten hämolysierend, dagegen auf Rinderblut nicht. Gallenfarbstoff und Eiweiß enthält er nicht.

13. I. Der Urin von 2 Tagen beträgt 230 ccm. Er ist stark getrübt und alkalisch; durch Essigsäure wird er klar und neutral. Er wirkt hämolytisch auf Menschen- und Hundeblut in 10 bezw. 15 Minuten. Mit NaCl-Lösung verdünnt, war nach 6 Stunden partielle Hämolyse eingetreten. Eiweiß und Gallenfarbstoff nicht nachweisbar.

Daß der Harn dieses anscheinend gesunden Tieres bei Mohrrüben- und Kleiefütterung hämolytisch wirkte, war zunächst nicht ganz unerklärlich. Doch konnte man vermuten, daß die Hämolyse vielleicht nur durch das infolge der Neutralisation mit Essigsäure reichlich entstandene essigsaure Natron hervorgerufen sein könnte. Um dies festzustellen, wird der nächste Harn mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert. Die dann mit dem Urin angestellten Blutproben ergaben selbst nach vielen Stunden keine Hämolyse. Damit ist der Beweis erbracht, daß die Hämolyse hier nur durch die Neutralisation mit Essigsäure hervorgerufen worden war.

14. I. 85 ccm stark trüber, alkalischer Harn. Kein Eiweiß, kein Gallenfarbstoff. Vergleichshalber wird nun ein Teil mit verdünnter Essigsäure, ein anderer Teil mit verdünnter Schwefelsäure geklärt und neutralisiert. Der mit Essigsäure neutralisierte Harn wirkt sowohl auf Menschen- als auch auf Hundeblut hämolytisch, und zwar sehr deutlich. Der mit Schwefelsäure neutralisierte Harn machte selbst nach vielen Stunden keine Hämolyse.

Die Neutralisation des Kaninchenharns mit Essigsäure kann also bei Blutversuchen zu falschen Resultaten führen und Hämolyse vortäuschen, die nicht durch den Urin bedingt zu sein braucht. Die Neutralisation mit Schwefelsäure läßt diesen Irrtum vermeiden. — Später stellte sich heraus, daß selbst bei Runkelrübenfütterung der mit Schwefelsäure neutralisierte Harn

nicht hämolytisch wirkt, obwohl die Runkeln nach Kobert zwei Saponine enthalten.

Nach diesem Vorversuch wurde bei Ernährung mit Moorrüben und Kleie der Harn eines anderen mittelgroßen Kaninchens von 1600 g Gewicht einer ebensolchen Voruntersuchung unterzogen. Er erwies sich als durchaus in jeder Beziehung normal. Er ist stark getrübt und reagiert alkalisch. Eiweiß und Gallenfarbstoff enthält er nicht. Versuchsweise wird er zum Vergleich sowohl mit Essigsäure wie mit Schwefelsäure neutralisiert. Im ersten Fall wirkt er wieder hämolytisch, im zweiten nicht einmal spurweis.

Am 15. I. wird dem Tier ein ganzes Gramm Sapindussaponin in 10 ccm NaCl-Lösung gelöst, mittags unter die Rückenhaut gespritzt. Im Wohlbefinden des Kaninchens tritt trotzdem zunächst keine Aenderung ein.

16. I. Das Tier hat 30 ccm Harn gelassen. Im Gegensatz zu dem normal schmutziggelben Harn eines Kaninchens besitzt dieser eine braungelbe Farbe. Er reagiert stark alkalisch. Blut, woran die braune Farbe denken ließ, ist in dem Urin mit der Guajakprobe nicht nachweisbar. Eiweiß ist nicht vorhanden. Die Neutralisation wird mit verdünnter Schwefelsäure vorgenommen. Die nunmehr mit dem Urin angestellten Blutproben auf Hämolyse sind sämtlich positiv. Es werden in je 5 ccm Urin total aufgelöst 2 Tropfen Menschen-, Pferde- und Hammelblut und zwar in 3 bezw. 2 und 1 Minute. Nach dieser prompten hämolytischen Wirkung zu schließen, mußte also in dem Harn schon ein beträchtlicher Teil des eingespritzten Saponins ausgeschieden worden sein. Gallenfarbstoff läßt sich in dem Harn nicht nachweisen.

17. I. Seit dem 16. abends macht das Tier einen schwerkranken Eindruck. Es frißt gar nichts mehr und sitzt regungslos in einer Ecke seines Käfigs. Die Harnmenge beträgt nur 20 ccm, ist ziemlich klar und kaum noch alkalisch. Proben von 5 ccm hämolysieren 2 Tropfen Menschenblut in 5 und Hammelblut in 10 Minuten total. Verdünnungen mit NaCl-Lösung $\overline{aa}$ besitzen keine hämolytische Kraft mehr. Bei Zusatz von überschüssiger Schwefelsäure zu dem Harn tritt ein flockiger Niederschlag ein. Ob dieser aus Eiweiß oder ev. auch Sapogenin besteht, läßt sich nicht ohne weiteres sagen. Diese Probe wird deshalb zusammen mit dem noch übrigen vor-

handenen Harn mit weiterer verd. Schwefelsäure versetzt und 2 Stunden lang im Wasserbad zerkocht. Die Flüssigkeit färbt sich dabei braunrot, und es fällt ein spärlicher, flockiger Niederschlag aus. Die Flüssigkeit wird filtriert und das Filtrat auf Zucker untersucht, der jedoch nicht nachweisbar ist. Auch der Niederschlag ließ sich durch den hämolytischen Versuch nicht sicher nachweisen, obwohl es wohl sicher ein Sapogenin war.

18. I. Das Tier hat sich anscheinend inzwischen wieder etwas erholt, frißt aber noch nicht richtig. Es sind 65 ccm leicht braungelber, nicht ganz klarer, fast neutraler Harn vorhanden. Keine hämolytische Wirkung auf Menschenblut und Pferdeblutkörperchen. Beim Neutralisieren mit verd. Schwefelsäure wird der Harn ganz klar. Mit Esbachs Reagens sowie mit Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid kann eine deutliche Fällung erzielt werden, durch Säure allein aber nicht. Bleizucker gibt eine gelbe Fällung; das Filtrat des zersetzten Bleizuckerniederschlags von nur 8 ccm Harn ist deutlich gelb und die damit angestellte Gmelinsche Probe stark positiv. Während also die Saponinausscheidung anscheinend zurückgetreten war, tritt jetzt eine Nachwirkung in Form von im Harn vorhandenem Gallenfarbstoff, wie auch von Eiweiß hervor. Die Zerkochung des Harns mit Säure gibt einen mäßigen Niederschlag. Doch läßt sich Zucker und Sapogenin dabei nicht nachweisen.

20. I. Von 2 Tagen zusammen 85 ccm alkalischer braungelber Harn. Er besitzt keine hämolytische Wirkung, dagegen enthält er etwas Eiweiß. Auch Gallenfarbstoff vorhanden, nur ist die Probe nicht so deutlich wie vorher. 25 ccm, mit Säure zerkocht, geben einen mäßigen Niederschlag. Zucker läßt sich in dem Filtrat nicht nachweisen. Der in Natriumcarbonat gelöste und in NaCl-Lösung aufgenommene Niederschlag rief binnen 20 Stunden bei Katzenblutkörperchen eine partielle Hämolyse hervor, enthielt also wohl Spuren einer hämolytischen Substanz.

21. I. Das Tier frißt wieder etwas. Es hat 140 ccm Harn gelassen, der nicht mehr braun, sondern wieder wie normal, d. h. also schmutziggelb aussieht. Auffallenderweise besitzt er jetzt nach dem Neutralisieren mit Schwefelsäure starke hämolytische Wirkung. Von ca. 8 ccm Harn werden 2 Tropfen Katzenblutkörperchen in 10 Minuten total gelöst. Bei Verdünnung des Harns mit NaCl-Lösung 1 : 2 tritt nach 15 Minuten immer noch totale und bei 1 : 4 verdünnt wenigstens noch partielle Hämolyse

ein nach einigen Stunden. Eiweiß und Gallenfarbstoff enthält der Harn nicht. Etwa 80 ccm werden mit etwas Schwefelsäure 2 Stunden lang im Wasserbad zerkocht. Es entsteht ein mäßiger Niederschlag, der sich aber nicht durch Hämolyse sicher als Sapogenin charakterisieren läßt.

22. I. Das Tier macht wieder einen kränkeren Eindruck. Der gelassene Harn, 95 ccm, sieht normal aus. Kein Eiweiß; dagegen besitzt er neutralisiert starke hämolytische Wirkung. 5 ccm Harn lösen 2 Tropfen Menschenblut in 5 Min. total; bei Verdünnung $\widehat{aa}$ mit NaCl-Lösung tritt nach 12 Minuten partielle Hämolyse ein. Verdünnung 1 : 4 übt keine Wirkung mehr aus. In 50 ccm mit Säure zerkochten Harns läßt sich kein Zucker nachweisen, dagegen kann mit dem Niederschlag, der in neutrale Lösung gebracht wird, nach 16 Stunden Hämolyse von Katzenblutkörperchen erzielt werden.

23. I. Das Kaninchen ist wieder munter und frißt besser. Doch ist es sehr heruntergekommen und mager. An der Injektionsstelle ist bis jetzt nichts zu sehen. Der Harn, 80 ccm, zeigt normale Farbe und reagiert amphoter. Hämolytische Wirkung besitzt er heute nicht; kein Eiweiß, kein Gallenfarbstoff.

24. I. 90 ccm alkalischer, etwas dunkler als normal aussehender Harn. Starke hämolytische Wirkung. 5 ccm lösen 2 Tropfen Menschenblut in 3 Minuten total, ebenso 2 Tropfen Rinderblut in 15 Minuten; bei Verdünnung mit NaCl-Lösung $\widehat{aa}$ werden von 5 ccm 2 Tropfen Menschenblut in 75 Minuten partiell und 2 Tropfen Rinderblut in 20 Minuten partiell gelöst. Gallenfarbstoff ist nicht nachweisbar. Etwa 55 ccm mit Schwefelsäure 1 Stunde zerkocht geben einen grauen Niederschlag. Im Filtrat läßt sich Zucker sicher nachweisen. Der Niederschlag besteht aus Sapogenin, denn er bringt in neutraler Lösung in 8 ccm NaCl-Flüssigkeit nach Zusatz von 3 Tropfen Placentarblut bis zum nächsten Morgen totale Hämolyse hervor.

Die beiden Spaltungsprodukte des Saponins, nämlich reduzierender Zucker und Sapogenin, ließen sich also durch Zerkochen des an sich hämolytisch wirkenden Harnes gewinnen, und damit war auf diese Weise die Ausscheidung des Saponins noch 9 Tage nach der Ein-

spritzung im Harn nachgewiesen. Schon vorher war es zeitweise zu Ausscheidung von Gallenfarbstoff und von Eiweiß gekommen. Unser Saponin wirkt also in großer Dose vom Unterhautzellgewebe aus unbedingt blutzersetzend. Es macht ferner Nierenschädigung. Endlich gelangte es sehr langsam durch den Harn zur Ausscheidung und zwar z. T. unverändert z. T. wohl auch als ein Sapogenin. Was die lokale Reizwirkung anlangt, so bildete sich langsam nach dem neunten Tage ein Absceß aus, der sich nach dem Bauche senkte und schließlich den Tod des Tieres bedingte. Die Einzelheiten des Protokolles darüber übergehe ich.

Versuch 19. Einem mittelgroßen Kaninchen wird am 17. XII., 5 h nachm., 1 g Sapindus-Saponin, in etwa 10 ccm Wasser aufgelöst, mit einem dünnen Gummischlauch direkt in den Magen eingeführt.

18. XII. Das Tier befindet sich noch ganz wohl. Bis 10 h vorm. hat es 80 ccm Harn gelassen, der sofort untersucht wird. Er reagiert alkalisch und ist nur schwach trübe. Durch Essigsäure wird er klar und neutral. 5 ccm werden mit 2 Tropfen Placentarblut versetzt. Es tritt keine Hämolyse ein. Saponin scheint also in dem Harn nicht vorhanden zu sein. Eiweiß ebenfalls nicht nachweisbar. Eine kleine Menge Harn wird mit überschüssiger Schwefelsäure versetzt. Es tritt keinerlei Veränderung und vor allem kein Niederschlag ein. Also ist auch kein Sapogenin vorhanden, da dieses ja in freier Säure unlöslich ist. Dagegen ist in dem Zersetzungsfiltrat (mit Alkohol-Schwefelsäure) des Bleizuckerniederschlags Gallenfarbstoff spurweise vorhanden. Im Laufe des Tages läßt der Appetit des Tieres bedeutend nach. Um 5 h nachm. wird ihm wieder 1 g des Saponins in Wasser gelöst in den Magen eingeführt. Das Kaninchen frißt darnach überhaupt nicht mehr und macht einen kranken Eindruck.

19. XII. Das Tier hat noch keinen weiteren Harn gelassen. Es sitzt den ganzen Tag über bewegungslos in einer Ecke seines Käfigs und frißt gar nichts. Um 5 h läßt es den ersten Harn. Dieser wird neutralisiert und 5 ccm davon mit Katzenblutkörperchen geprüft. Er wirkt hämolytisch. In der Bleizucker-

fällung war Gallenfarbstoff deutlich nachweisbar. Eiweiß enthielt der Urin nicht. Durch überschüssige Säure ließ sich kein Sapogenin ausfällen.

Ergebnis: Durch Verabfolgung des zweiten Grammes Saponin wurde das Wohlbefinden des Kaninchens, obwohl dies bei innerer Darreichung kaum zu erwarten war, schon erheblich gestört. Der Harn löste in einer Menge von nur 5 ccm 2 Tropfen Plazentarblut teilweise auf. Es mußten also bereits kleine Mengen des Saponins mit dem Harn ausgeschieden worden sein. Auch im Organismus hatte das Saponin bereits seine blutschädigende Wirkung entfaltet, wie dies ja bereits nach dem 1. Gramm der Fall zu sein schien, wo schon Spuren von Gallenfarbstoff im Urin nachweisbar waren. In dem zuletzt gelassenen Urin war Gallenfarbstoff sehr deutlich nachweisbar. Die ikterische Wirkung des Saponins war also im Zunehmen begriffen und wohl unzweifelhaft. Leider starb dann das Tier später bei einer neuen Einspritzung, die in die Lunge geraten war.

Immerhin beweist dieser Versuch, daß innerlich in Grammdosen verabfolgtes Sapindussaponin vom Kaninchen z. T. resorbiert wird und schädliche Wirkungen (Appetitverlust, Blutzersetzung) entfaltet.

Ich gehe nun zu Versuchen am **Hund** über.

Versuch 19. Ein mittelgroßer Hund von 13 kg Körpergewicht, der dauernd im Kasten gehalten wird und täglich die gleiche Nahrung erhält, so daß sein Harn Tag für Tag genau dieselbe Zusammensetzung hat, erhält am 6. XII., vorm. 9 h, nachdem er Harn gelassen hat, 1 g Sapindus-Saponin. Er verschluckt dies mit Fleisch, ohne Erbrechen zu bekommen. Ebenso bekommt er am 7., 8. u. 9. XII. um dieselbe Zeit je 1 g desselben Saponins. Der Hund ist so abgerichtet, daß er immer um dieselbe Zeit Harn läßt, der sauber aufgefangen wird. Und zwar geschieht

dies immer morgens, so daß der Urin immer gleich untersucht werden kann.

6. XII. Mit dem vor der Verabfolgung des 1. Gramms Saponin gelassenen Harn werden zur Kontrolle einige Blutproben angestellt. Es ergibt sich, daß er keine Hämolyse hervorruft. Auch ist er wie der Harn aller früheren Tage normal und ohne Besonderheiten. Auf Säurezusatz fällt nichts aus, also auch keine Kynurensäure.

7. XII. Der von dem Kastenhund am 7. XII., also nach Verabfolgung des 1. Gramms Saponin gelassene Harn wird mit Bleiessig ausgefällt. Die Menge der gefällten Phosphate, Sulfate, Chloride usw. ist eine sehr große. Das Filtrat wird mit verd. Schwefelsäure entbleit und filtriert. Eine kleine Menge dieses Filtrates wird neutralisiert, um damit die Zuckerprobe anzustellen. Die Fehlingsche Probe erweist sich negativ. Der größte Teil des nicht neutralisierten Filtrates wird mit einigen ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt und 4 Stunden im Wasserbad erhitzt, um etwa vorhandenes Saponin zu spalten in Zucker und Sapogenin. Nach 4stündigem Erhitzen wird die Flüssigkeit abgekühlt. Dabei tritt eine Trübung, aber kein Niederschlag ein. Schon daraus ist zu schließen, daß kein Saponin im Harn vorhanden gewesen ist; denn sonst hätte sich in der sauren Lösung Sapogenin abscheiden müssen. Es wird nun weiter ein Teil der Flüssigkeit nach vorheriger Neutralisation mit NaOH auf Zucker untersucht; es ist aber keiner vorhanden. Es ist also kein Saponin im Filtrat der Bleiessigfällung vorhanden gewesen. Im übrigen besitzt auch der frisch gelassene Harn vom 7. XII. an und für sich keine hämolytische Wirkung.

8. XII. Im Gegensatz zum Harn vom 7. XII. ist der heutige spurweise alkalisch, im übrigen klar und hellgelb. Da beim vorigen Harn im Filtrat der Bleiessigfällung nichts gefunden wurde, wird heute auch die Bleiessigfällung mituntersucht. Die Verarbeitung des Harns gestaltet sich also folgendermaßen: Die Gesamtmenge wird gleich nach der Entleerung mit neutralem Bleiacetat ausgefällt. Eine Probe des Filtrates wird mit Bleiessig im Überschuß versetzt, gibt aber damit, da ja der Harn von vornherein alkalisch gewesen ist, keinen Niederschlag. Es sind also im ganzen überhaupt nur 2 Portionen zu untersuchen, nämlich der neutrale Bleizuckerniederschlag und sein Filtrat. Der Bleizuckerniederschlag wird nun mit verd. Schwefelsäure zersetzt und mit Aqu. dest. durchgewaschen. Ein kleiner Teil des erhaltenen Filtrates wird mit Natriumcarbonat neutralisiert und damit die

Fehlingsche Probe angestellt. Es tritt keine Reduktion ein. Der größere Teil des Filtrates wird mit verd. Schwefelsäure einige Stunden im Warmwasserbad erhitzt. Nachdem sich die Flüssigkeit abgekühlt hat, findet sich am Boden ein ganz dunkler Niederschlag. Es wird abfiltriert und das Filtrat nach vorheriger Neutralisation mit NaOH auf Zucker geprüft. Die Fehlingsche Probe ist negativ. Der Filterrückstand wird mit physiologischer Kochsalzlösung durchgewaschen unter gleichzeitigem Zusetzen von Natriumcarbonat bis zur Neutralisation, wobei er sich z. T. löst. Die mit der erhaltenen Flüssigkeit angestellte Blutprobe bringt keine Hämolyse hervor. Es war also im Bleizuckerniederschlag kein Saponin enthalten. Das Filtrat der Bleizuckerfällung wird nun in derselben Weise untersucht. Zunächst wird wieder mit verd. Schwefelsäure zersetzt. Eine kleine wieder neutralisierte Menge ergibt eine negative Zuckerprobe nach Fehling. Die größere Menge wird mit Schwefelsäure versetzt und einige Stunden im Wasserbad erhitzt. Dabei tritt Trübung, aber kein sehr deutlicher Niederschlag ein. Nach Abkühlung und Abfiltrieren wird das Filtrat mit Natriumcarbonat neutralisiert und auf Zucker untersucht. Die Fehlingsche Probe ist auch hier negativ. Der Filterrückstand wird zwecks Neutralisierung mit Natriumcarbonat versetzt und mit physiologischer Kochsalzlösung durchgewaschen. Auch bei der hiermit angestellten Blutprobe tritt keine Hämolyse ein. Also auch bei dem Harn des 2. Tages verlief die Untersuchung auf Saponin vollständig resultatlos. Dementsprechend bleibt auch eine zum Harn zugesetzte Blutprobe völlig ungelöst.

9. XII. Mit dem heutigen Harn wird wiederum alsbald die Blutreaktion angestellt, d. h. zu einer Probe von etwa 10 ccm Harn werden 2 Tropfen Placentarblut zugesetzt und dann die Probe 2 Stunden sich setzen lassen. Es tritt keine Hämolyse ein. Auch beim Zerkochen mit konzentrierter Schwefelsäure tritt keine Zuckerabspaltung ein und der entstandene Niederschlag enthält kein Saponin, da nach Neutralisation mit Natriumcarbnoat und Lösung in Kochsalzlösung bei der Blutprobe keine Hämolyse eintritt.

10. XII. Der Harn, 200 ccm betragend, reagiert amphoter, ist aber klar. Kleine Proben von 5—10 ccm ergeben bei Zusatz von 2 Tropfen Kaninchen- und 2 Tropfen Menschenblut sofort totale Hämolyse. Es ist also entweder Saponin oder ein Sapogenin vorhanden. Leider gelang die Abscheidung dieser Substanz nicht. Ein größerer Teil

des Harns wird mit neutralem Blei ausgefällt. Der sehr voluminöse Niederschlag ist dieses Mal nicht weiß wie an den vorhergehenden Tagen, sondern deutlich gelb und erweckt den Verdacht, daß Gallenfarbstoff darin enthalten ist. Er wird daher auf Gallenfarbstoff untersucht. Er wird zu diesem Zweck mit verd. Schwefelsäure zersetzt und filtriert. Das bleifreie Filtrat sieht intensiv ikterisch aus und gibt beim Ausschütteln mit Chloroform an dieses Bilirubin ab, welches sämtliche üblichen Gallenfarbstoffreaktionen und zwar auf das intensivste gibt. Beim Stehen an der Luft geht sowohl die wässerige, als auch die Chloroformlösung nach einigen Stunden in Biliverdin über. Auch das Biliverdin gibt die dafür charakteristischen Reaktionen.

Somit habe ich sicher dargetan, daß das die innerliche Verabfolgung des Sapindus-Saponins beim Hunde blutzersetzend gewirkt hat. Nur ist das zersetzte Blut nicht in Form von Hämoglobin, sondern in Form von Gallenfarbstoff zur Ausscheidung gelangt. Mit dem Gallenfarbstoff gleichzeitig ist aber offenbar auch etwas unverändertes Saponin ausgeschieden worden, und deshalb löste der Harn Blutkörperchen auf. Gallensäuren waren nicht vorhanden. Die Resorption und Ausscheidung des Saponins ist offenbar recht langsam vor sich gegangen.

Da der Harn Menschen- und Kaninchenblut sofort löste, so muß für Menschenblut die Konzentration des Saponins darin (nach meinen früheren Versuchen) mindestens die von ca. 1:8000 bis 1:1200 gewesen sein.

11. XII. Das Tier ist heute entschieden krank und frißt nicht mehr, während es bis jetzt einen ziemlich normalen Eindruck gemacht hatte. Allerdings schien der Hund schon am gestrigen Tage beim Harnlassen Beschwerden zu haben. Die Menge des Harns beträgt 155 ccm. Reaktion amphoter. Farbe deutlich gelb. Die hämolytische Probe ergibt, daß der Harn an sich, wenn 5 ccm mit 2 Tropfen Menschenblut versetzt werden, augenblicklich totale Hämolyse hervorruft. Dasselbe ist der Fall, wenn der Harn mit NaCl-Lösung $\overline{aa}$ verdünnt wird, ebenso noch, wenn er 1:4 verdünnt wird. Bei 1:8 dauert es

3 Minuten, bis totale Hämolyse eintritt. 1: 16 wirkt nicht mehr. Da der Harn also noch bei 8facher Verdünnung hämolysierend wirkt, so entspricht er 8 mal 155 ccm, d. h. 1240 ccm einer gerade eben noch hämolytisch wirkenden Saponin-NaC -Lösung, d. h. einer Lösung von 1: 8000 — 1: 12 000. Die Menge des Saponins im Harn beträgt also 103—155 mg.

Während im gestrigen Harn bei gleicher Art der Schätzung nur 17—25 mg Saponin vorhanden sein konnten, ergibt sich heute etwa die fünffache Menge. Es gelang, den Harn durch neutrales Bleiacetat zu reinigen. Der Bleiniederschlag, welcher intensiv gelb aussah und aus dem sich reines Bilirubin ausziehen ließ, war saponinfrei, das Filtrat der Bleiacetatfällung, mit Natriumkarbonat entbleit, und neutralisiert, wirkte dagegen deutlich hämolytisch. Der Versuch daraus mit 90 %igem Phenol das Saponin auszuschütteln, mißlang jedoch leider.

12. XII. Der Harn hat heute eine intensiv braungelbe Farbe. Die Menge beträgt 230 ccm. Reaktion amphoter. 5 ccm, mit 2 Tropfen Kaninchenblut versetzt, ergeben keine Hämolyse. Der Harn wird mit neutralem Blei unvollkommen ausgefällt und die braungelbe Bleifällung mit Alkohol, dem etwas verd. Schwefelsäure zugesetzt ist, zersetzt. Das Filtrat sieht tief gelb aus und gibt mit Salpetersäure das charakteristische Farbenspiel der Gmelinschen Probe. Durch Oxydationsmittel läßt sich das Bilirubin leicht in Biliverdin überführen.

Auch der Harn vom 12. XII. erlaubt also den Schluß, daß im Körper des Hundes durch das am 6.—9. XII. eingegebene Saponin eine Blutzersetzung bis zu Gallenfarbstoff vor sich gegangen ist. Da der Harn von heute nicht hämolytisch wirkt, so kann man auch bestimmt sagen, daß die Hämolyse des vorhergehenden Tages nicht etwa auf Gallensäuren bezogen werden kann, denn diese

mußten im heutigen stärker ikterischen Harn ja vermutlich noch reichlicher vorhanden sein. Der Gallenfarbstoff ließ sich aus dem neutralen Bleiniederschlag rein darstellen, gab prachtvolle Gmelinsche Reaktion und ging beim Stehen an der Luft binnen 24 Stunden in Biliverdin über.

13. XII. Die sehr große Menge von 435 ccm Harn deutet auf eine diuretische Wirkung des Saponins. Der Harn reagiert schwach alkalisch. Eiweiß ist nicht nachweisbar. Keine hämolytische Wirkung. 35 ccm werden mit Bleizucker ausgefällt und daraus, wie oben schon öfter beschrieben, ein gelbes Filtrat gewonnen, das eine stark positive Gmelinsche Probe gibt. Urobilin ist nicht vorhanden.

Da sich schon aus 35 ccm Harn reichlich Gallenfarbstoff nach der Bleimethode abscheiden ließ, so gibt das auf den ganzen Harn berechnet eine sehr beträchtliche Menge. Daraus muß geschlossen werden, daß die Giftwirkung des Saponins auf das Blut beim Hunde nach innerlicher Darreichung intensiv ist und sehr lange nachwirkt.

In dem geringen Bodensatz des Harns fanden sich denn auch beim Mikroskopieren einige ikterische Körnerzylinder, außerdem Kristalle von einfachen Phosphaten und Tripelphosphaten.

14. XII. 390 ccm neutraler Harn. Keine hämolytische Wirkung auf Katzenblutkörperchen, kein Eiweiß. Dagegen ist Gallenfarbstoff in der Bleifällung von 10 ccm Harn deutlich nachweisbar.

15. XII. 290 ccm neutraler Harn. Keine hämolytische Wirkung. Kein Eiweiß. Gallenfarbstoffausscheidung nur noch schwach.

16. XII. 350 ccm hämolytisch unwirksamer, neutraler Urin. Kein Gallenfarbstoff nachweisbar.

17. XII. 340 ccm, neutral. Weder Hämolyse, noch Eiweiß. Spuren von Gallenfarbstoff nachweisbar.

18. XII. 305 ccm. Außer einer Spur Gallenfarbstoff nichts Besonderes.

19. XII. bis 8. I. Harn enthält immer noch von Zeit zu Zeit Spuren von Gallenfarbstoff. Seine Menge sinkt allmählich ab.

Die Blutzersetzung klingt also langsam ab. Unter allen Umständen scheint mir durch den Versuch dargetan zu sein, daß das Sapindussaponin bei innerlicher Verabfolgung in Grammdosen am Hund keineswegs quantitativ im Darm entgiftet wird, sondern teilweise resorbiert wird, blutzersetzend wirkt und sogar z. T. im Harn wiedererscheint, dessen Menge dabei vermehrt wird.

Versuch 20. Ein anderer Hund von 9 Kilo Gewicht erhält am 14. II., vorm. 9 h, 1 g Sapindus-Saponin, ebenso die folgenden 9 Tage, also im ganzen 10 g. Er erbrach nie, da das Saponin stets in Fleisch gewickelt verabfolgt wurde.

15. II. Harn, 175 ccm, schwach alkalisch, hellgelb. Kein Eiweiß, keine Hämolyse. Gallenfarbstoff spurweise nachweisbar, während bis dahin der Harn davon frei war.

16. II. Harn, 265 ccm, dunkelgelb, klar, neutral. Hämolyse und Eiweiß nicht vorhanden. Gallenfarbstoff gut nachweisbar.

17. II. Harn, 280 ccm, neutral, dunkelgelb. Keine Hämolyse, kein Eiweiß, dagegen reichlich Gallenfarbstoff.

18. II. 145 ccm neutraler, hellgelber, klarer Harn. Mäßig Eiweiß. Sehr starke hämolytische Wirkung. 2 Tropfen Placentarblut vom Menschen in jedem Glas werden vom Harn wie folgt gelöst.

Glas I 5 ccm physiol. NaCl-Lösung zur Kontrolle
„ II 5 „ Harn
„ III 5 „ „ und physiol. NaCl-Lösung $\widehat{aa}$
„ IV 5 „ „ „ „ „ 1:4
„ V 5 „ „ „ „ „ 1:8
„ VI 5 „ „ „ „ „ 1:16
„ VII 5 „ physiol. NaCl-Lösung zur Kontrolle.

Glas I u. VII setzen klar ab, Glas II u. III wird sofort, Glas IV u. V in ½, Glas VI in 1 Minute total gelöst.

Weitere Verdünnungen wirken nicht mehr total hämolytisch.

Nach der hämolytischen Wirkung zu urteilen, müßten im heutigen Harn wie Vergleichsversuche mit physiol. NaCl-Lösung zeigen, 193 mg Saponin ausgeschieden worden sein.

Um den Harn größtenteils von den Farbstoffen usw. zu befreien, wird er unvollkommen mit Bleizucker ausgefällt. Die Fällung sieht deutlich gelb aus, was auf sehr viel Gallenfarbstoff schließen läßt. Die Gmelinsche Probe bestätigt das auch. Im Filtrat der Fällung läßt sich mit Fehling Zucker nicht nachweisen. Das Saponin, das sich ja nach den Vorversuchen durch Blei nicht ausfällen läßt, mußte also im Filtrat enthalten sein. Eine kleine Probe von 5 ccm löst auch 2 Tropfen Menschenblut sofort total auf. Da sich aus dieser Flüssigkeit nach dem Entbleien durch Natriumkarbonat das Saponin durch Ansäuern nicht abscheiden läßt, so wird sie mit verd. Schwefelsäure 1 Stunde lang im Wasserbad zerkocht. Dabei färbt sie sich dunkelrot. Außerdem tritt ein mäßiger Niederschlag ein. Im Filtrat läßt sich mit Fehling jetzt reichlich Zucker nachweisen. Der auf dem Filter bleibende Rückstand, das Sapogenin, dem ein dunkelroter Farbstoff beigemischt ist, wird mit wenig NaOH in 10 ccm NaCl-Lösung gelöst und neutralisiert. Die Lösung ist von roter Farbe. 5 ccm davon lösen 2 Tropfen Menschenblut in wenigen Minuten auf. Damit war das Sapogenin biologisch nachgewiesen. Auf dem Filter bleibt auch nach der Lösung eine starke dunkelrote Färbung zurück. Durch Aufgießen von Alkohol geht ein großer Teil des Farbstoffs in Lösung. Mit Äther ist die rote Substanz daraus nicht ausfällbar, sondern sie geht in diesen über. Auch in Essigäther ist sie löslich. Weiteres über diesen Farbstoff vermag ich heute nicht auszusagen. Vor dem Spektroskop war das Grün verdunkelt.

19. II. 165 ccm, neutraler, braungelber Harn. Keine Hämolyse, kein Eiweiß. Sehr viel Gallenfarbstoff. Mit Bleizucker von den Farbstoffen befreit, wird der Harn mit verd. Schwefelsäure zerkocht. Dabei tritt wieder die dunkelrote Färbung ein. Der Niederschlag ist sehr gering. Im Filtrat tritt mit Fehling Glukuronsäurereaktion, d. h. langsame Reduktion ein. Der rote Farbstoff des Sapogeninniederschlages ist wieder in Alkohol löslich. Da er bei der Überführung von Alkohol in Äther eine violette und beim Übergang aus dem Ätherverdunstungsrückstand in Chloroform eine blaue Farbe annimmt, so muß er danach als aus Indikan entstanden angesprochen werden, dem vielleicht ein roter Skatolfarbstoff beigemischt ist. Ober-

meyers Reagens bestätigt dies. Im Spektroskop ist ein deutlich dunkler Streifen, der den letzten Teil des Rot und den Anfang des Gelb auslöscht. Die Menge des Farbstoffgemisches muß eine ziemlich beträchtliche sein, da der Niederschlag des zerkochten Harns, trotzdem er schon 2mal mit Alkohol extrahiert war, immer noch rot aussieht und roten Farbstoff abgibt. Diese starke Farbstoffausscheidung ist jedenfalls durch die starke Eiweiß- und Blutzersetzung infolge der Gifteinwirkung des Saponins bedingt. Ein Teil des Filterrückstandes, mit etwas kohlens. Natron in 5 ccm NaCl-Lösung gelöst, bringt 2 Tropfen Blut nach einigen Stunden zur partiellen Hämolyse, so daß neben dem Farbstoff in dem Niederschlag des zerkochten Harns auch Sapogenin vorhanden war.

20. II. 295 ccm neutraler Harn. Keine Hämolyse, etwas Eiweiß; sehr viel Gallenfarbstoff.

21. II. 385 ccm dunkelgelber, neutraler, klarer Harn. Mäßig Eiweiß, keine deutliche Hämolyse. Mit Fehling längere Zeit erhitzt, tritt starke Reduktion ein. Der Harn wird mit Bleizucker ausgefällt, dann mit Säure zerkocht. Es bildet sich eine gelbrote, trübe Flüssigkeit. Klares Filtrat, das gelbrot aussieht und reduziert. Auf dem Filter bleibt ein gelbroter Rückstand zurück. Ein Teil löst sich leicht in Alkohol, der Rest in Alkohol mit etwas Wasser verdünnt. Bei Zusatz von Säure fallen aus dem letzten Teil weiße Flocken aus, die, mit wenig NaOH in NaCl-Lösung gelöst, partiell hämolysieren. Also ein wenig Sapogenin vorhanden.

22. II. 405 ccm neutraler dunkelgelber Harn. Etwas Eiweiß. Starke Blutwirkung; bis zur 12fachen Verdünnung totale Hämolyse von Katzenblutkörperchen. Gallenfarbstoff reichlich vorhanden. Die Hauptmenge des Harns wird mit Bleiacetat ausgefällt und das Filtrat nach dem Entbleien mit Säure zerkocht. Die Flüssigkeit wird dabei diesmal nicht rot, sondern bleibt ungefärbt wie sie war. Sie reduziert jetzt Kupfer und zwar in der für Zucker charakteristischen Weise. Der beim Zerkochen entstandene Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt, gewaschen, in wenig NaOH gelöst und aus dieser Lösung durch Zusatz von Säure als weißer Niederschlag gewonnen. Dieser ist das reine Sapogenin. Die starke hämolytische Wirkung dieser Substanz bestätigt diese Annahme.

23. II. 365 ccm neutraler hellgelber Harn. Etwas Eiweiß. Der Harn reduziert etwas. Keine Hämolyse, weniger Gallenfarbstoff als am Tage vorher.

24. II. 385 ccm neutraler hellgelber Harn. Etwas Eiweiß. Der Harn reduziert. Hämolyse bis zur 8fachen Verdünnung. Gallenfarbstoff nur wenig vorhanden. Säure fällt kalt nichts aus. Beim Zerkochen bleibt rotes, klares Filtrat, das reduziert. Der Niederschlag auf dem Filter, Sapogenin und Farbstoff, mit Alkohol gelöst, gibt beim Nachgießen von Chloroform starke Blaufärbung. Es ist also wieder Indigofarbstoff vorhanden. Die Lösung des Sapogenins in phys. NaCl besitzt starke hämolytische Wirkung.

25. II. Harn 300 ccm, fast farblos, neutral. Keine Hämolyse, etwas Eiweiß. Harn reduziert. Bleizuckerfällung weiß, wenig Gallenfarbstoff. Mit Säure zerkocht dunkelrote Verfärbung, aber kein Niederschlag. Das Filtrat reduziert. Indogofarbstoff nachweisbar.

26. II. 400 ccm neutraler, hellgelber, klarer Harn, der reduziert. Keine Hämolyse, kein Eiweiß. Gallenfarbstoff wieder deutlich vermehrt. Mit Blei ausgefällt und mit Säure zerkocht, zeigt der Harn dunkelrote Verfärbung. Etwas Indigofarbstoff vorhanden. Kein Niederschlag, also kein Sapogenin abspaltbar.

27.—28. II. Harn bis auf Spuren von Gallenfarbstoff normal. Im März wurde der Harn ganz normal.

Ergebnis: Dieser zweite Versuch mit Sapindussaponin am Hund, der als Kontrolle für den ersten dienen sollte, hat also die bei dem ersten gemachten Beobachtungen voll bestätigt und in einigen Punkten noch ergänzt. In dem ersten Versuch war der Nachweis der Saponinausscheidung nur durch die hämolytische Wirkung des Harns geführt worden. In diesem Versuch konnte das Saponin auch durch sein Spaltungsprodukt, das Sapogenin, das in ziemlich reiner Form dargestellt wurde, und durch den abgespaltenen Zucker charakterisiert werden. Beide Substanzen, das Saponin

und das Sapogenin, wirkten hämolytisch. Danach ist an einer, wenn auch nur partiellen, Ausscheidung des Sapindussaponins im Harn beim Hund nicht mehr zu zweifeln. Im übrigen trat die blutschädigende Wirkung des Saponins auch in diesem Versuch indirekt, d. h. in Form von ausgeschiedenem Gallenfarbstoff zu tage. Die gesteigerte Diurese trat hier ebenfalls deutlich noch in die Erscheinung. Als neues Moment erschien eine leichte Eiweißausscheidung im Urin. Ferner ließ das nachgewiesene Chromogen darauf schließen, daß auch im Organismus eine starke Protoplasmaschädigung durch das Saponin stattfand, deren Schlacken z. T. durch den Harn ausgeschieden wurden. Auch nach der neuesten über Indikan vorliegenden Untersuchung, nach der von F.C. Arkenstedt[1]), ist eine übermäßige Ausscheidung von Indikan immer ein Beweis für krankhafte und ungewöhnlich hohe Eiweißzersetzung.

Ungiftig ist das Sapindussaponin in Grammdosen für den Hund bei innerlicher Darreichung also durchaus nicht.

---

[1]) Arkenstedt, New York med. Journ. 1909, 9. Okt.; Ed. Spaeth, Süddeutsche Apoth. Ztg. 1914, Nr. 30, 15. April, S. 264.

VII. Eigene Versuche mit käuflichem Guajak-Saponin.

1. Versuche mit Guajaksaponin und -sapogenin an Blut.

Ich benutzte das Handelspräparat der Firma E. Merck, welches auf Veranlassung von Geh. Rat Kobert in den Handel gebracht wird und die Bezeichnung **Guajaksaponin** führt. In Wahrheit müßte es genauer als Guajakrindensaponingemisch bezeichnet werden, denn es enthält sowohl neutrales als saures Saponin.

Mit einer 1 %igen, mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten neutralisierten Guajaksaponinlösung werden folgende Versuche gemacht.

Versuch 1. Menschenblut.

Glas I 5 ccm physiol. NaCl-Lös. zur Kontrolle
„ II 5 „ „ „ 50 mg Saponin enth.
„ III 5 „ „ „ 25,5 „ „ „
„ IV 5 „ „ „ 12,55 „ „ „
„ V 5 „ „ „ 6,25 „ „ „
„ VI 5 „ „ „ 3,12 „ „ „
„ VII 5 „ „ „ 1,56 „ „ „

Zu jeder Probe werden 2 Tropfen Menschenblut zugesetzt. Bis zum nächsten Morgen haben alle Proben vollständig klar abgesetzt.

Ergebnis: Das Guajaksaponin besitzt also auf serumhaltiges Menschenblut keine hämolytische Wirkung, selbst wenn die Konzentration des Giftes **1 : 100** beträgt.

Versuch 2. Pferdeblutkörperchen, die durch Absetzung, aber nicht durch Waschen gewonnen sind. Anordnung und Ausführung wie bei Versuch 1. Zu jedem Glas wird 1 Tropfen Blutkörperchenbrei zugesetzt.

Auch diese Proben setzen alle, also selbst in dem Glase mit 50 mg Saponin, klar ab.

Ergebnis: Unser Saponin übt also auch auf Pferdeblut keinerlei hämolytische Wirkung aus, selbst wenn die Hauptmenge des Serums entfernt ist und die Saponinmenge **1 : 100** beträgt.

Versuch 3. Ziegenblut, serumhaltig. Ausführung wie in Versuch 1.

Ergebnis: Keine Hämolyse. Also auch Ziegenblut wird durch unser Saponin nicht angegriffen, selbst wenn die Konzentration des Saponins **1 : 100** beträgt.

Versuch 4. Hühnerblut, serumhaltig. Ausführung wie oben bei Versuch 1.

Ergebnis: Guajaksaponin ruft bei Hühnerblut keine Hämolyse hervor, selbst wenn die Konzentration des Saponins **1 : 100** beträgt.

Fassen wir alle Versuche zusammen, so ergeben sie ebenfalls, daß das Guajaksaponin der Firma Merck auf Blut von Mensch, Ziege, Pferd, Huhn, selbst wenn das Serum zum größten Teil entfernt ist, auch bei der sehr starken Konzentration von 1:100 binnen 24 Stunden ohne Einwirkung ist. Da ich obige Blutarten, wie sie sich mir gerade boten, und nicht etwa als die allerunempfindlichsten ausgewählt habe, so wird mein Ergebnis wohl auch noch für eine Reihe weiterer Blutarten Geltung haben.

Etwa ein Jahr, nachdem ich vorstehende Versuche angestellt hatte, erschien eine Publikation von J.

Rühle[1]), in welcher dieser ausgezeichnete Fachmann sich eingehend von neuem mit dem Nachweis von Saponin in Schaumgetränken beschäftigt und nach sorgfältigster Isolierung die Saponine mittels gewaschener Blutkörperchen auf ihre hämolytische Kraft prüft. Er fand, daß die beiden Komponenten des Guajakrindensaponins, das saure und das neutrale, auf gewaschene isolierte Blutkörperchen noch bei 1:1000 nicht ohne hämolytische Kraft sind, und zwar besonders das saure. Ich meinerseits betone demgegenüber, daß bei der von mir gewählten Versuchsanordnung das Mercksche Präparat selbst bei zehnmal größerer Konzentration binnen 24 Stunden keinerlei hämolytische Wirkung ausübte. Würde man also einem Schaumgetränk selbst die zehnfache Menge der Dose, welche zum Schaumerzeugen notwendig ist, zusetzen, so würden dennoch 10 Flaschen einer solchen Limonade im Laufe eines Tages getrunken, das Blut des betreffenden Menschen wohl kaum schädigen. Für den Rühleschen Nachweis kommt es eben auf die Entfernung der letzten Spuren von Blutserum an; im lebenden Organismus kommt dies aber nie vor.

Ich gehe nun zur Besprechung meiner Versuche mit dem **Sapogenin** des Merckschen Guajaksaponins über. 10 ccm der 1 %igen Guajaksaponinlösung werden mit 2 % konzentrierter Schwefelsäure versetzt und diese Mischung 2 Stunden im Wasserbad gekocht. Schon bei dem Zusatz der Säure tritt eine sehr starke weiße Fällung ein, da ja das Handelspräparat ein Gemisch beider Rindensaponine ist, von dem das saure in angesäuertem Wasser unlöslich ist. Im Lauf der 2 Stunden

[1]) Über den Nachweis von Saponin, III. Mitteilung. Sonderdruck aus Ztschr. f. Unters. d. Nahr- u. Genußmittel, Bd. 27, 1914, Heft 1—3 (Königfestschrift).

wurde der Niederschlag noch stärker, da beide Saponine in Sapogenine übergingen. In dem neutralisierten Filtrat läßt sich nach Fehling Zucker nachweisen. Der Niederschlag, der das Sapogeningemisch sein muß, wird mit kohlensaurem Natron gelöst, mit NaCl-Lösung verdünnt und dann die Mischung neutralisiert. Sie beträgt 30 ccm. 1 ccm entspricht dem Sapogenin aus 3,3 mg Saponin, auf Sapogenin berechnet also höchstens 2 mg, auch wenn man berücksichtigt, daß die Ausbeute an Sapogenin bei Guajaksaponin größer ist, als bei Sapindussaponin (60 statt 20 %).

Versuch 5. 5 ccm dieser Sapogeninlösung werden abends mit 2 Tropfen Menschenblut versetzt. Bis zum nächsten Morgen ist vollständige Hämolyse eingetreten. 5 weitere ccm wirken auf 2 Tropfen Taubenblut binnen 1 Stunde total hämolytisch. Weitere 5 ccm bringen 2 Tropfen Rinderblut vollständig zur Hämolyse.

Ergebnis: Während also das Guajaksaponin als solches bei meiner Versuchsanordnung nicht hämolytisch wirkt, ist die hämolytische Wirkung des durch Zerkochen mit Säure nach Abspaltung von Zucker erhaltenen Sapogeningemisches eine recht beträchtliche. Bei 5 mg : 5 ccm, d. h. bei **1 : 1000** tritt noch totale Hämolyse ein. Wahrscheinlich geht sie sogar noch weiter.

Versuch 6. Von einer 1 %igen Guajaksaponinlösung werden 20 ccm mit 4 ccm verd. Schwefelsäure länger als 1 Stunde zerkocht. Beim Zusatz der Säure fällt das saure Saponin in weißen Flocken aus. Nach 1stündigem Kochen im Wasserbad ist ein sehr starker weißer Niederschlag von Sapogeninen eingetreten, der auch nach längerem Stehen etwa $^1/_4$ des Flüssigkeitsvolumens ausmacht. Nach dem Abfiltrieren läßt sich im Filtrat reichlich Zucker nachweisen. Das Sapogeningemisch selbst wird in 40 ccm physiol. Kochsalzlösung mit ein wenig Alkali neutral gelöst. Wenn wir annehmen, daß das Saponin höchstens zwei Drittel seines Gewichts an Sapogenin liefert, so erhalten wir 132 mg Sapogenin in 40 ccm

NaCl-Lösung, d. h. 3,3 mg in 1 ccm. Mit dieser annähernd neutralen Lösung werden die nachstehenden Blutversuche angestellt.

a. Placentarblut vom Menschen.

Glas I 5 ccm physiol. NaCl-Lösung zur Kontrolle
„ II 5 „ Flüssigkeit, 16 mg Sapogenin enth.
„ III 5 „ „ 8 „ „ „
„ IV 5 „ „ 4 „ „ „
„ V 5 „ „ 2 „ „ „
„ VI 5 „ „ 1 „ „ „
„ VII 5 „ „ 0,50 „ „ „
„ VIII 5 „ „ 0,25 „ „ „

Jedem Glas werden 2 Tropfen Blut zugesetzt. Glas I nach 17 Stunden klar abgesetzt. Glas II—VII nach 17 Stunden total gelöst, Glas VIII setzt klar ab.

Ergebnis: Die hämolytische Wirkung des Guajaksapogenins auf Menschenblut beträgt also **1 : 10 000,** falls 66 % Ausbeute gerechnet wird.

Versuch 7. Ziegenblut; dasselbe Sapogenin. Die ganze Ausführung ebenso.

Glas I nach 15 Stunden klar abgesetzt, ebenso Glas VII u. VIII, Glas II total gelöst in 15 Stunden, Glas III fast vollständig, Glas IV partiell, Glas V u. VI nur in Spuren gelöst.

Ergebnis: Die totale hämolytische Wirkung unseres Sapogenins für Ziegenblut, dessen große Unempfindlichkeit ja bekannt ist, hat also ihre Grenze bei **1 : 312**, wenngleich partielle Hämolyse auch noch für viel stärkere Verdünnungen eintritt.

Versuch 8. Hühnerblutkörperchen, durch Absetzen erhalten. Ausführung genau wie oben; dasselbe Sapogenin. Zu jedem Glas wird 1 Tropfen Blutkörperchen zugesetzt.

Nach 5 Stunden Glas I u. V—VIII klar abgesetzt, Glas II u. III total, Glas IV partiell gelöst.

Ergebnis: Hühnerblutkörperchen werden von Guajaksapogenin noch bei einer Verdünnung von **1 : 625** total gelöst.

Versuch 9. Rinderblut; dasselbe Sapogenin. Ausführung ebenso. In jedes Glas kommen 2 Tropfen Blut. Glas V in 5 Minuten, Glas VI nach 15 Minuten total gelöst; Glas IV ist

erst nach 5 Stunden total gelöst; Glas VII nach 24 Stunden nur partiell, Glas II, III u. VIII zeigen nach 24 Stunden nur eine Spur Hämolyse, Glas I setzt klar ab.

Ergebnis: Rinderblut wird auffallenderweise nur in einer Konzentration von 1:1250 bis **1:5000** total gelöst. Stärkere Konzentrationen zeigen nur Spuren von Hämolyse. Im ersten Augenblick erscheint dies paradox, wird aber verständlich durch die analogen Ergebnisse, welche W. Laube[1]) mit dem Sapogenin der Saponaria alba erhalten hat. Die Lösung dieses Sapogenins in Kochsalzlösung hat nämlich, wenn sie aus trocknem Sapogenin hergestellt wird, ebenfalls die Eigenschaft, bei großer Verdünnung hämolytisch zu wirken, bei stärkerer Konzentration aber nicht mehr; hier schlägt die hämolytische Wirkung sogar in Agglutination um.

Überblicken wir alle Blutversuche mit Guajaksaponin und Guajaksapogenin, so ergibt sich von neuem die schon seit Frieboes bekannte Tatsache, daß das Guajaksaponin auf serumhaltiges Blut keine nennenswerte hämolytische Wirkung besitzt. Die von v. Liebermann[2]) und kürzlich wieder von Rühle dagegen erhobenen Einwände erklären sich dadurch, daß diese Autoren mit gewaschenen serumfreien Blutkörperchen arbeiteten, die es im lebenden Organismus doch nicht gibt. Andererseits aber ergaben meine Versuche das immerhin überraschende Resultat, daß dem Guajaksapogenin, was bisher noch nicht bekannt war, eine recht beträchtliche blutlösende Wirkung zukommt. Sollte das Gua-

[1]) Beitr. z. Kenntnis der Wirkung einiger Sapogenine auf das Blut. Ztschr. f. exp. Path. u. Ther., Bd. **10**, 1912, S. 28.

[2]) Arch. f. Hygiene, Bd. **62**, 1907, S. 299.

jaksaponin im Organismus etwa zersetzt werden, so könnte der resorbierte Teil also doch hämolytisch wirken.

2. Versuche mit Guajaksaponin am Hund.

Versuch 10. Am 16. I. früh bekommt ein mittelgroßer, gleichmäßig mit Pansen genährter Hund in Fleisch gewickelt 1 g Guajak-Saponin (Merck), ebenso die folgenden 9 Tage, im ganzen also 10 g. Der Hund zeigt während des ganzen Versuchs keinerlei Störungen im Befinden. Im Harn vor Beginn des Versuches kein Eiweiß, wohl aber von einem früheren Saponinversuche her abklingende minimale Mengen von Gallenfarbstoff.

17. I. 270 ccm neutral reagierender Harn. Spez. Gewicht 1029. Keine hämolytische Wirkung weder auf Menschen, noch auf Pferdeblut. Die Gallenfarbstoffreaktion ist stärker als im Harn der vorhergehenden Tage. Bei Zusatz von verd. Schwefelsäure zu dem Harn tritt eine geringe Trübung ein. Es kann dies, abgesehen von Kynurensäure, ausgeschiedenes saures Saponin oder Sapogenin sein, da diese beiden ja durch Säure ausfällbar sind. 210 ccm Harn werden nach Zusatz von 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure 2 Stunden lang im Wasserbad zerkocht. Es tritt ein leichter Niederschlag ein, der auf dem Filter gesammelt wird. Der Filterrückstand wird etwas gewaschen, mit Natriumkarbonat neutralisiert, gelöst und in etwa 10 ccm physiol. Kochsalzlösung aufgenommen. Die erhaltene Flüssigkeit rief nach Zusatz von 2 Tropfen serumarme Menschenblutkörperchen im Laufe einer halben Stunde totale Hämolyse hervor.

Ergebnis: Da das Guajaksapogenin hämolytische Wirkung besitzt, so müssen wir annehmen, daß binnen 24 Stunden bereits ein Teil der eingegebenen Substanz durch den Harn ausgeschieden wurde, der beim Zerkochen des Harns mit Säure zu Sapogenin gespalten wurde und als solches hämolytisch wirkte. Daß der Harn an und für sich keine Hämolyse hervorrief, stimmt damit überein.

18. I. 170 ccm gelber klarer Harn, der neutral reagiert. Keine hämolytische Wirkung auf Menschen- und auf Pferdeblut. Bei Säurezusatz entstehen leichte Flocken, die als Saponin aufgefaßt werden müssen. Die Esbachsche Probe ergibt etwas Eiweiß. Das durch Zersetzung des Bleizuckerniederschlags von nur 10 ccm Harn erhaltene Filtrat ist sehr gelb und die Gmelinsche Probe sofort sehr deutlich. Die Gallenfarbstoffausscheidung ist also wesentlich stärker wie tags zuvor. In 24 Stunden tritt beim Stehen an der Luft Umwandlung in Biliverdin ein. Eine größere Portion des Harns, mit Säure zerkocht, läßt mit Fehling nicht sicher Zucker erkennen; wohl aber fällt etwas Sapogenin aus, das sich durch Hämolyse nachweisen läßt, wenngleich diese nur partiell ist.

Ergebnis: Auch der Harn vom 18. I. enthielt eine geringe Menge unzersetztes Saponin, das sich in Sapogenin umwandeln ließ. Die Gallenfarbstoffausscheidung hat sich verstärkt.

19. I. 220 ccm alkalischer ziemlich klarer Harn. Spuren von Eiweiß. Keine hämolytische Wirkung. Gallenfarbstoff in 20 ccm Harn nachweisbar. Sapogenin nicht abspaltbar, also heute wohl kein Saponin ausgeschieden.

20. I. 260 ccm Harn, klar, alkalisch. Er enthält eine Spur Eiweiß; keine Hämolyse. Gallenfarbstoff in 10 ccm nachweisbar, aber nicht so reichlich wie im Harn vom 19. I. 250 ccm Harn. Bei der Zerkochung läßt sich etwas Sapogenin gewinnen, das partielle Hämolyse hervorruft. Es ist also wieder etwas Sapogenin im Harn ausgeschieden worden. Auch Gallenfarbstoff ist nachweisbar.

21. I. Es finden sich 290 ccm annähernd klarer, amphoter reagierender Harn vor. Kein Eiweis, keine hämolytische Wirkung, dagegen deutlich Gallenfarbstoff in 15 ccm nachweisbar. 220 ccm mit Säure zerkocht geben einen leichten Niederschlag, der auf Menschenblut partiell hämolytisch wirkt. Somit dürfte wieder etwas Saponin vorhanden gewesen sein.

22. I. Die Harnmenge von 170 ccm ist heute dunkelgelb, was auch in dem Nachweis von reichlichem Gallenfarbstoff zum Ausdruck kommt. Reaktion amphoter. Keine Hämolyse, kein Eiweiß. Beim Zerkochen mit Säure ein leichter

Niederschlag, der auf Menschenblut partiell hämolytisch wirkt und auf Saponinausscheidung hindeutet. Zucker ist in der Zerkochungsflüssigkeit nicht nachweisbar. Der Gallenfarbstoff geht bei Anwesenheit von 1 Tropfen Salpetersäure über Nacht in Biliverdin über.

23. I. 105 ccm sehr klarer, amphoter reagierender Harn. Etwas Eiweiß, keine Hämolyse. Gallenfarbstoff nachweisbar. 75 ccm mit Säure zerkocht, geben keinen Zucker, wohl aber einen leichten Niederschlag, der partielle Hämolyse macht. Demnach ist auch heute etwas Saponin ausgeschieden worden.

24. I. Der Hund hat 200 ccm Harn gelassen, der dunkelgelb aussieht und amphoter reagiert. Er besitzt keine hämolytische Wirkung und enthält kein Eiweiß. In 15 ccm sehr viel Gallenfarbstoff nachweisbar, der beim Stehen an der Luft in Biliverdin übergeht. Es wird das etwa im Harn ausgeschiedene Saponin mit Säure daraus ausgefällt. In der Tat tritt in 2 Proben nach Zusatz von etwas verd. Schwefelsäure schon bei nur je 25 ccm Harn nach 4 Stunden ein beträchtlicher Niederschlag ein. Die beiden Niederschläge werden nach Abgießen der Flüssigkeit vereinigt, gewaschen, in 2 Tropfen NaOH u. dest. Wasser gelöst, daraus mit Säure wieder ausgefällt und filtriert. Auf dem Filter bleibt eine rotgelbe Masse zurück. Schon eine minimale Menge davon gibt die Reaktion mit Meckes Reagens, die nach Frieboes für Guajaksaponin charakteristisch ist. Der Filterrückstand wird mit NaOH gelöst, dest. Wasser nachgespült und das Filtrat mit verd. Schwefelsäure 1 Stunde zerkocht. Es tritt ein graugrüner Niederschlag ein. Die Flüssigkeit wird abgekühlt und filtriert. Der Filterrückstand wird mit etwas Natriumkarbonat gelöst und mit physiol. Kochsalzlösung nachgespült. Zu der etwa 5 ccm betragenden Flüssigkeit werden abends 2 Tropfen Placentarblut zugesetzt. Bis zum nächsten Morgen ist totale Hämolyse eingetreten. Es war also Sapogenin abgespalten worden.

25. I. Aus diesem Harn wird das Saponin durch ClH ausgefällt. Mit einigen Partikelchen der gefällten Substanz wird die Probe mit Meckes Reagens angestellt. Diese gelingt mit den für Guajaksaponin charakteristischen eintretenden Färbungen. Die Substanz trocknet auf dem Filter und wird dann mit NaOH gelöst und dest. Wasser nachgespült. Es wird dann überschüssige Schwefelsäure zugesetzt, wobei das Saponin wieder ausfällt. Nun wird

1 Stunde im Wasserbad zerkocht. Das gewonnene Sapogenin ist unterm 27. I. weiterbesprochen. Der heutige Harn enthielt also Saponin, das durch Säure ausgefällt und mit Reaktion mit Meckes Reagens als Guajaksaponin identifiziert werden konnte. Außerdem war in dem Harn reichlich Gallenfarbstoff.

26. I. 190 ccm, auffallend klar, neutral. Kein Eiweiß, keine Hämolyse. Gallenfarbstoff deutlich nachweisbar, doch vielleicht weniger wie sonst. 160 ccm werden mit etwa 10 ccm verd. Schwefelsäure versetzt. Bis zum Morgen des 27. ist der Harn infolge Zersetzung trübe geworden. Beim Filtrieren bleibt das Saponin auf dem Filter zurück, das als solches charakterisiert werden kann.

27. I. 170 ccm neutraler, hellgelber, durchsichtiger Harn. Keine Hämolyse, etwas Eiweiß. Bleizuckerfällung zeigt einen Stich ins Gelbe. Gallenfarbstoff leicht darin nachweisbar. 140 ccm werden mit 10 ccm verd. Schwefelsäure versetzt. Am nächsten Morgen klar abgesetzt. Die meiste Flüssigkeit wird abgegossen und die mit dem Niederschlag zurückgelassene abfiltriert. Auf dem Filter bleibt eine rotgelbe Substanz zurück, die die Reaktion mit Meckes Reagens gibt und also als von dem Hund unverändert ausgeschiedenes Guajaksaponin angesehen werden muß. Um etwaige Harnsäure aus der Substanz auszuschalten, wird mit Ammoniak gelöst. So geht also nur das Saponin durchs Filter. Mit verd. Schwefelsäure aus dem Filtrat wieder ausgefällt und wieder filtriert, wird der Rückstand mit NaOH wieder gelöst und mit dest. Wasser nachgespült. Nach Zusatz von überschüssiger Säure wird 1 Stunde zerkocht. Genau so werden auch die aus den mit Säure versetzten Harnmengen vom 28. u. 29. erhaltenen Niederschläge zerkocht. Nach dem Zerkochen konnte in dem Filtrat der erhaltenen Flüssigkeit mit Fehling nach längerem Erhitzen Zucker nachgewiesen werden. Die grauen Filterrückstände der vier einzelnen Portionen vom 25., 27., 28. u. 29. werden vereinigt, in wenig NaOH gelöst und in 20 ccm NaCl-Lösung aufgenommen. Mit dieser neutralen Flüssigkeit werden mit zwei verschiedenen Blutarten Versuche gemacht.

Placentarblut vom Menschen.

Glas I 5 ccm NaCl-Lösung zur Kontrolle
„ II 5 „ der obigen Sapogeninlösung
„ III 5 „ Sapogeninlösung + NaCl-Lösung $\widehat{aa}$.

Nach 13 Stunden hat Glas I klar abgesetzt, Glas II ist total, Glas III partiell gelöst.

Ein zweiter Versuch mit Rinderblut, dessen Ausführung ganz analog war, lieferte dasselbe Ergebnis wie der Versuch mit Menschenblut. Somit ist bewiesen, daß das Sapogenin, welches aus Harnsaponin gewonnen worden war, für zwei Blutarten deutlich hämolytisch wirkte.

28. I. 370 ccm neutraler klarer Harn. Etwas Eiweiß, keine Hämolyse. Bleizuckerfällung fast weiß, doch Gallenfarbstoff darin noch nachweisbar. 340 ccm werden mit 15 ccm verd. Schwefelsäure versetzt. Am 29. früh hat sich das Saponin am Boden und an den Seitenwandungen des Glases abgesetzt. Es wird auf einem Filter gesammelt und genau so behandelt wie das vom 27. und ergibt ein analoges Resultat. Also Saponin vorhanden.

29. I. 260 ccm leicht alkalischer, hellgelber, klarer Harn. Bleizuckerfällung weiß, Gallenfarbstoff darin nicht mehr deutlich nachweisbar. Mäßig Eiweiß, keine hämolytische Wirkung. Der von 230 ccm mit Schwefelsäure angesäuerten Harn am nächsten Morgen erhaltene Niederschlag wird wie oben weiterbehandelt. Das zum Schluß gewonnene Sapogenin wird mit dem vom 27. vereinigt.

30. I. 255 ccm amphoter reagierender Harn. Keine Hämolyse, kein Eiweiß. Gallenfarbstoff nachweisbar. Die Säurefällung von 240 ccm Harn wird mit der vom 31. I. vereinigt.

31. I. 180 ccm Harn. Kein Eiweiß, keine Hämolyse. In der weißen Bleizuckerfällung Gallenfarbstoff nur eben angedeutet. 150 ccm mit Säure versetzt, geben leichten Bodensatz. Dieser wird mit dem vom 30. I. in Ammoniak gelöst und mit Säure wieder ausgefällt. Davon wird ein Teil mit etwas Natriumkarbonat in etwa 10 ccm NaCl-Lösung gelöst. Diese Flüssigkeit wirkte nicht hämolytisch, was ja auch der Fall sein muß, da das Saponin an sich hämolytisch unwirksam ist. Über den Rest des Saponins cf. unter dem 4. II.

1. II. 155 ccm neutraler, klarer Harn. Kein Eiweiß, keine Hämolyse. Gallenfarbstoff ist nicht nachweisbar. Bei der Säurefällung tritt ein leichter Bodensatz ein. Auf dem Filter bleibt eine graugrüne Masse zurück, die vielleicht z. T. aus Kynurensäure besteht. cf. 4. II.

3. II. 205 ccm, neutral, hellgelb. Kein Eiweiß, keine Hämolys. Bleizuckerfällung gelb. Gallenfarbstoff darin vorhanden. Durch Säure etwas ausfällbar.

4. II. 335 ccm dunkelgelber Harn. Keine Hämolyse, kein Eiweiß. Gallenfarbstoff nachweisbar. Im angesäuerten Harn bildet sich ein Bodensatz, der mit dem vom 30.—31. I. und 1.—3. II. vereinigt wird. Dieser gesammelte, auf Saponin zu prüfende Bodensatz wird zuerst in Ammoniak gelöst (um Harnsäure auszuschalten) und daraus mit Säure wieder ausgefällt. Nun wird nach Zusatz von Säure 1 Stunde zerkocht. Nach dem Abfiltrieren des Bodensatzes läßt sich in dem Filtrat mit Fehling nach längerem Erhitzen und Stehenlassen sehr deutlich Zucker (auch Pentose) nachweisen. Der Filterrückstand des Sapogenin wird mit 2 Tropfen NaOH in 30 ccm physiol. NaCl-Lösung gelöst. Mit der neutralen Flüssigkeit werden Blutversuche angestellt, die zu dem Schluß berechtigen, daß wirklich Sapogenin vorliegt. Diese ist aus dem Saponin des Harns vom 30. I. bis 4. II. durch Zerkochen mit Säure entstanden. Es besitzt hämolytische Kraft für Menschen-, Rinder- und Pferdeblut.

5. II. 260 ccm klarer, dunkelgelber Harn. Keine Hämolyse, etwas Eiweiß, reichlich Gallenfarbstoff. Im angesäuerten Harn fällt etwas aus und zwar heute sehr viel. Vermutlich ist die Hauptmenge davon Kynurensäure und daneben ist vielleicht etwas Saponin vorhanden. Siehe darüber unter 6. II.

6. II. 135 ccm leicht getrübter, dunkelgelber Harn. Keine Hämolyse, kein Eiweiß. Bleizuckerfällung weißgelb. Gallenfarbstoff darin reichlich vorhanden. Die Säurefällung im Harn ist eine mäßige. Sie wird ebenso wie die vom 5. II., jede für sich, in erwärmtem Alkohol zu lösen versucht. In beiden Fällen löst sich nur sehr wenig, aber eben doch etwas. Eine Ätherausfällung ist aus dieser alkoholischen Lösung nicht zu erzielen. Der Ätheralkohol wird deshalb wieder verdunstet und der Rückstand zusammengebracht mit dem in Alkohol löslichen Teil der Säurefällung vom 8.—10. II. Dieses ganze Gemisch wird nun mit Säure zerkocht. Nach dem Zerkochen kann in dem Filtrat Zucker nachgewiesen werden. Der Filterrückstand wird in physiol. NaCl-Lösung gelöst und neutralisiert. Jetzt ist hämolytische Wirkung vorhanden und zwar eine ziemlich beträchtliche, sowohl für Menschenblut als für Katzenblut. Also auch in dem Harn vom 5., 6., 8., 9. und 10. II. wurde, obwohl seit dem 25. I. kein Saponin

mehr gefüttert wurde, noch Saponin ausgeschieden, das durch Abspaltung seines Sapogenins nachgewiesen werden konnte.

7. II. 155 ccm neutraler, sehr dunkelgelber, klarer Harn. Keine Hämolyse, kein Eiweiß, dagegen deutlich Gallenfarbstoff. Im angesäuerten Harn fällt etwas aus. Dieses wird in Ammoniak gelöst, mit Säure wieder ausgefällt und filtriert. Das fragliche Saponin auf dem Filter wird nun mit erwärmtem 96 %igen Alkohol zu lösen versucht. Ein beträchtlicher Teil geht auch ins Filtrat über. Bei Zusatz von wasserfreiem Äther zu der alkoholischen Lösung fällt das Saponin daraus, da es ja in Äther unlöslich ist, in schönen weißen Flocken aus. Der Äther selbst nimmt eine grüne Farbe an, da in ihm ja der Gallenfarbstoff bezw. ein Derivat desselben zurückgehalten wird. Das ausgefällte Saponin gibt die Reaktion mit Meckes Reagens. Es wird, da es ja als ziemlich rein angesehen werden kann, mit einem kleinen Teil auf etwaige hämolytische Wirkung geprüft. Wie das chemisch reine Guajaksaponin vor der Verfütterung, so wirkt auch dieses aus dem Harn gewonnene Saponin an sich auf Menschenblut nicht hämolytisch. Der größere Teil der wiedergewonnenen Substanz wird mit Säure zerkocht. In dem Filtrat läßt sich Zucker nachweisen. Der Filterrückstand in etwa 8 ccm physiol. NaCl-Lösung gelöst und neutralisiert, löst 2 Tropfen Menschenblut total in ½ Stunde.

Auch in den Tagen vom 11.—14. II. wurden noch eben nachweisbare Spuren von Saponin durch den Harn ausgeschieden. Von da ab war der Harn dann dauernd normal.

Ergebnis: Dieser ausgedehnte Versuch am Hund erbrachte den Beweis, daß das von Merck bezogene, ein Gemisch von saurem und von neutralem Saponin bildende Guajakrindensaponin allerdings nicht quantitativ, aber doch teilweis unverändert im Harn ausgeschieden wird. Damit ist selbstverständlich auch die unveränderte Resorption bewiesen. Die Ausscheidung erfolgt wie bei allen Saponinen nicht gleichmäßig, sondern schubweise, und

überdauert die Einführung um mehr als eine Woche. Da dieses Saponin nicht hämolytisch wirkt, so durfte bei unveränderter Ausscheidung auch der Urin niemals Hämolyse machen. Das war auch der Fall. Andererseits aber mußte, da das Sapogenin des Guajaksaponins Blut löst, das durch Spaltung des im Harn enthaltenen Saponins gewonnene Sapogenin selbstverständlich Hämolyse machen. In der Tat konnte auch dieser Nachweis öfter geführt werden. Außerdem konnte dieses Guajaksaponin, soweit es durch Säure ausfällbar ist, nach Umreinigen als ziemlich reine Substanz aus dem Harn gewonnen werden. Die Identität mit der eingegebenen Substanz konnte durch die dieser eigenen Reaktionen erwiesen werden. Gallenfarbstoffausscheidung trat auch in diesem Versuch, vielleicht nicht so intensiv — dieses Saponin ist ja auch viel weniger giftig als das Sapindussaponin — deutlich zutage. Man muß also immerhin auch diesem Saponin beim Zirkulieren im Organismus eine gewisse Blutschädigung zuschreiben, falls große Dosen verabfolgt werden. Die Diurese war auch hier, wenn auch nicht auffallend, gesteigert. Auch fand sich hin und wieder im Harn etwas Eiweiß, dessen Auftreten doch nur auf Konto der Saponindarreichung gesetzt werden kann. Ich will zum Schluß nicht unerwähnt lassen, daß Auftreten von Gallenfarbstoff im Harn gerade beim Hund relativ leicht eintritt und weniger zu besagen hat als beim Menschen oder gar beim Pflanzenfresser. Immerhin läßt sich doch nicht bestreiten, daß sein schubweises Auftreten nach zwei verschiedenen Saponinen nicht anders gedeutet werden kann, als daß diese Stoffe es verursacht haben. Da das Guajaksaponin an sich nicht auf Blut hämolytisch wirkt, muß wohl daran gedacht werden, daß es durch

ein Leberferment vorher teilweis zu Sapogenin angebaut wird.

Rühles Warnung auch vor Guajaksaponin schließt also ein Körnchen Wahrheit, auch von unserm Standpunkte aus betrachtet, ein. Jedenfalls dürften sich unter den Nahrungsmittelsaponinen noch unschädlichere Saponine finden als das Guajaksaponin.

VIII. Eigene Versuche mit Quillajasaponin der Firma Sthamer.

Ein mit demselben Hund vom 4.—13. V. durch Verfütterung von 10 g Quillajasaponin (also täglich ein Gramm) angestellter Versuch lieferte so wenig abwechselnde Resultate, daß es sich nicht verlohnt, ihn hier mit allen Einzelheiten anzuführen. Es sei nur erwähnt, daß das Quillajasaponin der Firma Sthamer in Hamburg ein Gemisch der beiden Saponine der Quillajarinde mit 18 % indifferenten Stoffen vorstellt. Es ist ein gelbbraunes Pulver. Von den beiden Saponinen herrscht die Quillajasäure vor. Nach Darreichung dieses Saponinpräparates, das nach Kobert[1]) in vitro ein beträchtliches Blutgift ist, wirkte der Harn in vitro niemals hämolytisch. Auch eine Abscheidung der beiden Saponine oder ihrer Sapogenine gelang nicht sicher, da der Harn offenbar immer nur sehr geringe Mengen dieser Substanzen enthielt. Dagegen trat auch während dieses Versuchs Gallenfarbstoff sicher auf. Der Harn gab meist die Gmelinsche Probe, während er zu Beginn des Versuches keinen Gallenfarbstoff enthielt. Die Diurese war in diesem Fall beträchtlich gesteigert, trotzdem im Harn die beiden Saponine nur in sehr geringen Mengen vorhanden sein konnten. Erbrechen trat nicht ein. Dazu war allerdings nötig, daß das Präparat gut in Fleisch eingewickelt verabfolgt wurde.

[1]) Ber. d. Deutschen Pharmaz. Ges. Jg. **22**, 1912, S. 205.

Gesamtergebnisse.

1. Gewisse Saponine werden nach innerlicher Verabfolgung allerdings bei weitem nicht quantitativ, aber doch in merkbaren Mengen, unverändert vom Tierkörper resorbiert und als solche im Harn ausgeschieden. Der Beweis stützt sich vornehmlich auf die Nachweismethode von Saponinen mit Hilfe der Hämolyse, wiewohl auch die chemische Nachweismethode zur Ergänzung mit herangezogen wurde. Bei den Versuchen mit dem Saponin aus Sapindusnüssen der Firma Hoffmann-La-Roche, dessen starke hämolytische Wirkung gleichzeitig in vitro wieder nachgeprüft wurden, trat die blutlösende Wirkung des Saponin-Harns sehr deutlich in Erscheinung. Das darin also vorhandene Saponin konnte indessen auch noch durch sein Spaltungsprodukt, das Sapogenin, nachgewiesen werden. Aus dem mit Schwefelsäure zerkochten Harn konnte das Sapogenin ziemlich rein dargestellt werden. Da auch das Sapogenin von Sapindus hämolytische Wirkung besitzt, so mußte dies Harnsapogenin in vitro ebenfalls Hämolyse hervorrufen. Die angestellten Blutversuche erbrachten diesen Beweis in der Tat.

2. Schwieriger war der Beweis für die Ausscheidung im Harn bei dem Merckschen Guajaksaponin zu erbringen. Da dieses Saponin keine nennenswerte hämolytische Wirkung besitzt, so war mit Blutversuchen des Harns nichts anzufangen. Das Guajaksaponin, und zwar das saure, konnte jedoch aus dem Harn leicht abgeschieden werden. Andererseits war bisher nicht bekannt, ob das Sapogenin der Guajaksaponine ein Blutgift ist oder nicht. Bei Versuchen nach dieser Richtung hin zeigte sich die oben schon

erwähnte vielleicht etwas überraschende Tatsache, die übrigens auch bei andern Saponinen bereits konstatiert wurde, daß das Guajaksapogenin eine ziemlich beträchtliche Hämolyse hervorruft. Durch Zerkochen mit Säure wurde aus dem Harn dieses Sapogenin gewonnen und als solches mittels der Hämolyse identifiziert. Wäre das Sapogenin als solches im Harn vorhanden gewesen, so hätte der Harn Blut lösen müssen. Da dies aber niemals während des über 2 Wochen sich erstreckenden Versuches der Fall war, so ist eben damit bewiesen, daß das resorbierte Saponin unverändert im Harn ausgeschieden wurde, ein Beweis, der bei Sapindus auf diese Weise nicht geführt werden konnte, da dort beide, das Saponin und das Sapogenin, hämolysieren.

3. Wenn bei dem Versuch mit dem Quillajasaponin der Firma Sthamer, einem in vitro immerhin starken Blutgift, auf dem Weg der Hämolyse und auch auf chemischem Wege ein Beweis für die Ausscheidung im Harn nicht erbracht werden konnte, so läßt sich dies vielleicht folgendermaßen erklären. Entweder wird dieses Saponin an und für sich weniger resorbiert als andere, was übrigens nach einigen Autoren der Fall sein soll, so daß die im Harn ausgeschiedene minimale Menge zu gering war, um Hämolyse hervorzurufen. Oder aber die Resorption von Saponin war infolge Gewöhnung des Tieres an verschiedene Saponingifte überhaupt allmählich immer geringer geworden, eine Erscheinung, die in der Toxikologie ja nicht ohne Parallele sein würde. Nach Kobert kann sich nämlich allmählich eine sog. Gruppenimmunität gegen Saponine bilden. Das

nach Kobert und Pachorukow an und für sich viel stärker als Sapindus toxisch wirkende Quillajasaponin wurde dank dieser nützlichen Schutzeinrichtung des Organismus des Hundes eben wahrscheinlich rasch durch Spaltung zum größten Teil im Darm entgiftet und als Sapogenin mit dem Kot ausgeschieden. Bei intakter Darmschleimhaut soll das Quillajasaponin ja auch beim Menschen so gut wie nicht resorbiert, sondern im Darm tief greifend gespalten werden, falls es in ganz kleinen Mengen als Infus der Rinde verabfolgt wird. Für diese Anschauung kann mein Versuch als Bestätigung dienen.

4. Die Annahme der veränderten oder unveränderten partiellen Resorption der drei Saponine konnte begründet werden, wenn die durch die meisten Saponine und Sapogenine auf das Blut bedingten sekundären Veränderungen, wie sie nicht im Reagenzglas sondern erst in der Leber vor sich gehen, in irgend einer Form nachgewiesen werden konnten. In der Tat gelang es nach allen drei Saponinen merkliche Ausscheidung von Gallenfarbstoff im Harn nachzuweisen.

5. Endlich wirkten alle drei Saponine zeitweise vermehrend auf die Harnmenge.

Es sei mir gestattet, auch an dieser Stelle meinem hochgeschätzten Lehrer, Herrn Geheimrat Kobert, meinen Dank auszusprechen für die liebenswürdige Unterstützung.

Lebenslauf.

Geb. am 7. VIII. 1887 zu Waldstetten in Baden als Sohn des Kaufmanns Gottfried Fieger, besuchte ich von 1901 an das Gymnasium zu Tauberbischofsheim (Baden). Am 31. Juli 1908 erhielt ich dort das Zeugnis der Reife. Ich studierte von Michaelis 1908 an Medizin an den Universitäten Würzburg, Freiburg und Rostock. Zu Ende des W.-S. 1910/11 bestand ich in Rostock die Vorprüfung und am 18. Dezember 1913 ebenda das Staatsexamen.